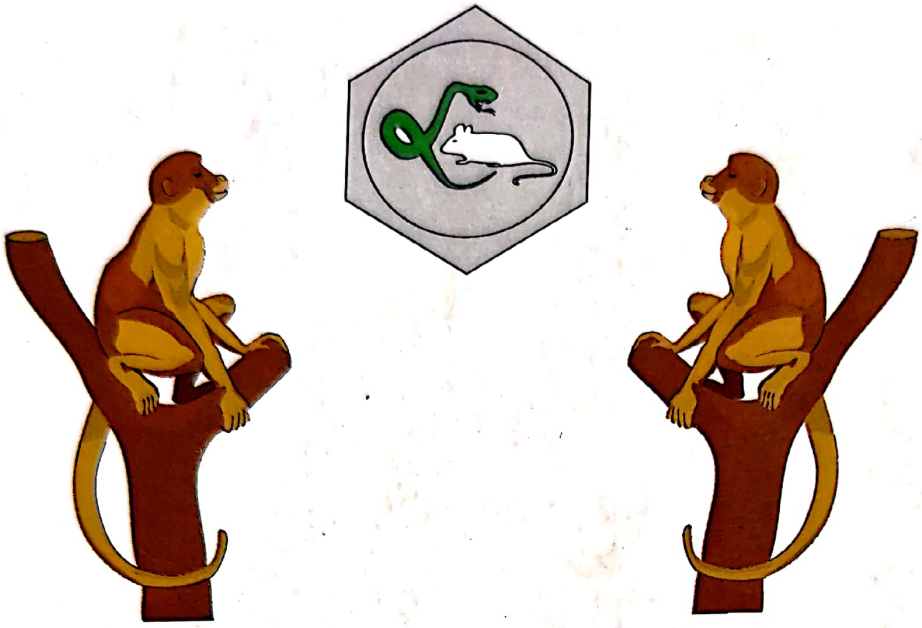
CĂTĂLINA ELENA LUPUŞORU



IMUNOFARMACOLOGIE

Editura ALFA
Iaşi - 2006

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

Părinților mei,
SUZANA ŞI VASILE BULGARIU,

"Cuvântul acesta, transmis de la un țărm la altul al timpului, de o lume de umbre, pare rostit de un mic glas fără de sfârşit.

Numai el, păstrător al unei lumi de taine, ştie să scoată din absența noastră o îndelungată memorie, să recreeze în spații chipul OMULUI, să dea întâmplării iluzia că suntem forma unui destin..."

JEAN TARDIEU

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

ABREVIERI xv

PREFAȚĂ xxi

CUVÂNT ÎNAINTE xxiii

I. INTRODUCERE 1

II. IMUNOMODULAREA 3
1. IMUNOMODULAREA INTRINSECĂ 3
1.1. PRINCIPALELE SISTEME ALE IMUNOMODULĂRII INTRINSECI 4
1.2. NEURO–IMUNO–ENDOCRINO–MODULAREA 4
1.2.1. Stresul şi sistemul imun 8
1.2.1.1. Stresul cronic şi imunitatea 8
1.2.1.2. Stresul, neuropeptidele şi imunomodularea 10
1.2.2. Efectele ACTH , CRH şi β-endorfinei asupra activității celulelor NK 12
1.2.3. Cortizolul şi androgenii - produse finale ale axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene 12
1.2.4. Dimorfismul sexual al răspunsului imun şi al axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene 14
1.2.5. Circuitul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenalian-SI 15
1.2.6. Circuitul feed-back de imunoreglare al IL-1 şi GCS 16
1.2.7. Axa limfoid-corticosuprarenaliană. Secreția hormonală a limfocitelor 17
1.2.8. Corticostatins - Defensis (CS): peptide cu proprietăți antimicrobiene şi de antagonizare a efectelor ACTH 18
1.2.9. Glanda pineală şi imunitatea 19
1.2.10. Modularea funcției limfocitelor de către neuropeptide (substanța P, Somatostatina şi VIP) 20
1.2.11. Mielopeptidele şi SI 20
1.2.12. Rolul sistemului enkefalin - endorfinic în neuroimunomodulare 21
1.2.13. Coordonarea de către SNC a neuro-endocrino-imunomodulării 27

2. IMUNOMODULAREA PROVOCATĂ 28
2.1. IMUNOMODULAREA PROVOCATĂ SELECTIVĂ 28
2.1.1. Imunosupresia 28
2.1.1.1. Imunosupresia specifică 28
ANTICORPII POLICLONALI 28
ANTICORPII MONOCLONALI ANTILIMFOCITARI 30
GLOBULINA IMUNĂ 32
PLASMAFEREZA 35
2.1.1.2. Imunosupresia nespecifică 36
a) AGENȚII FIZICI 39
b) AGENȚII CHIMICI 39
b.1. Agenții alchilanți 39
CICLOFOSFAMIDA 39
CLORAMBUCILUL 42
DACARBAZINA 42
PROCARBAZINA 42
b.2. Antagoniștii purinici 43
MERCAPTOPURINA 43
AZATHIOPRINA 45
THIOGUANINA 46
FLUDARABIN - FOSFAT 47
CLADRIBINA 47
b.3. Antagoniștii pirimidinici 47
FLUOROURACIL 47
CYTARABINA 48
AZACITIDINA 49
b.4. Antimetaboliții 49
METOTREXAT 49
b.5. Antiinflamatoarele nesteroidiene 52
ACIDUL NIFLUMIC 54
INDOMETACIN 54
PIRFENIDONE 55
TENIDAP 55
b.6. Antireumaticele modificatoare ale bolii 56
COMPUȘII ORGANICI CU AUR 56
SULFASALAZINA 58
AMINOCHINOLINELE 59
D-PENICILAMINA 60
b.7. Alți agenți chimici 62
HIDROXIUREEA 62
DAPSON 62
COMPLEXUL TETRACLORDECAOXIGEN 64
c) AGENȚII VIRALI 64
d) SUBSTANȚE NATURALE ȘI ANALOGI DE SINTEZĂ 64
VINBLASTINA 64
VINCRISTINA 65
PODOFILOTOXINA 65
COLCHICINA 66

Scanned with OKEN Scanner

DEXTRANUL ... 66
BUCILLAMINA ... 66
CICLOSPORINA ... 67
ALTE ANTIBIOTICE CU EFECTE IMUNOSUPRESOARE ... 68
Tacrolimus ... 68
Doxorubicin ... 69
HORMONII STEROIZI ... 71
ANTICORPII ŞI COMPLEXELE IMUNE CIRCULANTE ... 78
GAMA GLOBULINA ... 78
ALFA-FETOPROTEINA ... 79
PROSTAGLANDINELE ŞI LEUCOTRIENELE ... 79
PAF ... 81
e) NOI AGENŢI IMUNOSUPRESORI ... 86
MYCOPHENOLAT MOFETIL ... 86
MIZORIBINE ... 86
BREQUINAR SODIC ... 87
15-DEOXYSPERGUALIN ... 87
SIROLIMUS ... 87
TALIDOMIDA ... 87
LEFLUNOMIDE ... 90
2.1.2. Imunostimularea ... 92
2.1.2.1. Imunostimularea specifică ... 92
2.1.2.2. Imunostimularea nespecifică ... 92
2.2. IMUNOMODULAREA PROVOCATĂ NESELECTIVĂ ... 96
2.2.1. Mecanisme moleculare de acţiune ... 96
2.2.2. Clasificare ... 98
2.2.3. Efecte farmacodinamice. Indicaţii terapeutice ... 101
a) Hormoni cu rol imunomodulator ... 101
TIMOZINA ... 101
TIMOPOETINA ... 102
FACTORUL UMORAL TIMIC ... 103
b) Citokinele ... 104
INTERFERONII ... 104
INTERLEUKINELE ... 106
Interleukina-1 ... 107
Interleukina-2 ... 111
Interleukina-3 ... 113
Interleukina-4 ... 114
Interleukina-5 ... 116
Interleukina-6 ... 118
Interleukina-7 ... 120
Interleukina-8 ... 121
Interleukina-9 ... 123
Interleukina-10 ... 123
Interleukina-11 ... 125
Interleukina-12 ... 125
Interleukina-13 ... 126
Interleukina 14 ... 127

Scanned with OKEN Scanner

Interleukina 15 127
Interleukina 16 129
Interleukina 17 131
Interleukina 18 134
FACTORII DE NECROZĂ TUMORALĂ 136
FACTORII DE STIMULARE A COLONIILOR CELULARE 141
Factorul de stimulare a coloniilor celulare granulocitare şi macrofagice 142
Factorul de stimulare a coloniilor de granulocite 145
Factorul de stimulare a coloniilor de macrofage 146
FACTORUL DE TRANSFORMARE A CREŞTERII 147
FACTORUL DE RECUNOAŞTERE DERIVAT DIN TUMORI 149
FACTORII DE CREŞTERE AI FIBROBLASTELOR 150
EOTAXIN 153
CITOKINE IMPLICATE ÎN INFLAMAȚIE 153
Astmul bronşic 158
TERAPIA CU CITOKINE A TUMORILOR 164
c) Extracte din produse biologice umane 164
IMMODIN-SEVAC 164
d) Imunomodulatori monobacterieni 164
BACILLE CALMETTE-GUÉRIN 165
CORYNEBACTERIUM PARVUM 166
DUCTON 167
DEODAN 167
BIOSTIM 168
CANTASTIM 168
URO-VAXOM 169
PICIBANIL 170
OM-89 170
ALTE PREPARATE MONOBACTERIENE 171
OK 432 171
Preparate din peretele celular întreg sau fracțiuni ale acestuia 171
IMUVERT 171
e) Imunomodulatori polibacterieni 172
VACCINUL POLIMICROBIAN 172
OMNADIN 172
C.C.B 173
IRS-19 173
EU-4800 173
STOMASINA 174
DISIBIOTIN 174
REACTIN 174
LANTIVAC 174
LANTIGEN B 174
LANTIGEN C 174
PRODIGIOSAN 175
POLIDIN 175
PANODIN 176

Scanned with OKEN Scanner

POLYSAN 176
BRONHODIN 176
AERODIN 177
IBC-10 178
BRONCHO-VAXOM 179
OROSTIM 181
UROSTIM 182
LW 50020 183
UBENIMEX 183
f) Imunomodulatori din fracțiuni subcelulare bacteriene 184
RIBOMUNYL 184
D_{53} 185
g) Polizaharidele fungice 186
LENTINAN 186
CURDLAN SULFATAT 187
KRESTIN 188
SCHIZOPHYLLAN 188
PUP 189
h) Produse imunomodulatoare din plante 189
ARTEMISINE® ŞI ARTHEMETER® 189
SAIBOKU-TO 189
KOREAN mistletoe 190
Ren-shen-yang-rong-tang 190
Sho-Seiryu-To 191
F 36 192
RGAE 192
TYLOGENIN 192
SINOMENINE 193
ACEMANNAN 194
FU-LING 195
KUM-HWANG-SAN 195
i) Imunomodulatori cu greutate moleculară mică, produşi de microorganisme 196
i.1. Inductorii de citokine 196
CYTOGENIN 196
CYTOBLASTIN 196
CONAGENIN 197
i.2. Antagoniştii matricei extracelulare 197
DELAMINOMICINELE 197
IC-101 197
j) Imunomodulatori de sinteză 198
LEVAMISOL 198
THIABENDAZOL 200
SM-8849 201
ISOPRINOSINA 202
METILINOSIN MONOFOSFAT 203
NPT 15392 203
ROQUINIMEX 204

Scanned with OKEN Scanner

DIETILDITIOCARBAMAT DE SODIU 204
LOBENZARID 204
CYANIDANOL-3 205
LINOMIDE 205

III. ALTE MEDICAMENTE CU ACȚIUNE PE SISTEMUL IMUNITAR 207
1. MEDICAMENTE CU ACȚIUNE ASUPRA SNV 207
1.1. SISTEMUL NERVOS PARASIMPATIC 208
1.2. SISTEMUL NERVOS SIMPATIC 210
1.2.1. Agoniștii receptorilor α-adrenergici 210
1.2.2. Agoniștii receptorilor β-adrenergici 210
Agoniștii neselectivi ai receptorilor β1-β2 și selectivi ai receptorilor β2 210
1.2.3. Antagoniștii receptorilor α-1 adrenergici 211
1.2.4. Beta-blocantele 212
1.2.5. Neurosimpaticoliticele cu acțiune predominant centrală 212
METILDOPA 212
6-HIDROXIDOPAMINA 212
2. AUTACOIZI CU STRUCTURĂ AMINICĂ 212
2.1. HISTAMINA 212
2.1.1. Agoniștii receptorilor histaminergici H_1 213
2.1.2. Antihistaminicele anti-H1 214
HYDROXYZINE 214
CETIRIZINE 214
DIFENHIDRAMINA 214
AZATADINA 214
2.1.3. Antihistaminicele anti-H2 214
CIMETIDINA 214
RANITIDINA 214
FAMOTIDINA 214
2.1.4. Inhibitori ai eliberării de Histamină 215
CROMOGLICATUL SODIC 215
NEDOCROMIL 215
Compusul LCB 2183 215
2.2. SEROTONINA 216
2.2.1. Inhibitorii recaptării Serotoninei și agoniști ai receptorilor serotoninergici 216
D-DEXFENFLURAMINA 216
D-FENFLURAMINA 216
3. PROSTAGLANDINELE ȘI LEUCOTRIENELE 216
4. DONORII DE OXID NITRIC ȘI INHIBITORII DE NOS 217
4.1. NO ȘI APĂRAREA NESPECIFICĂ 219
4.1.1. NO și creșterea tumorilor 219
4.1.2. NO și infecția 220
4.2. NO ȘI PROCESELE PATOLOGICE 221
4.2.1. Endotoxemia. Inflamația cronică. Neoplaziile 221
4.2.3. Encefalomielita alergică experimentală 224

Scanned with OKEN Scanner

4.2.4. Boli inflamatorii intestinale 225
4.3. RĂSPUNSURILE IMUNOBIOLOGICE SPECIFICE 226
4.3.1. Expresia Ag MHC II (Ia) 226
4.3.2. Activitatea NO la nivelul celulelor NK/LAK 226
4.3.3. Apoptoza 227
4.4. OXIDUL NITRIC ŞI AUTACOIZII IMUNOMODULATORI 228
4.4.1. Citokinele şi NO 228
4.4.2. Prostaglandinele şi NO 229
4.4.3. NO şi AMPc 229
4.4.1. NO şi fierul 230
4.5. FACTORI MAJORI DETERMINANŢI ÎN INTERFERAREA CU EFECTELE IMUNOBIOLOGICE ALE NO 230
4.5.1. Suplinirea cu L-arginină 230
4.5.2. Căi alternative ale metabolismului L-argininei 231
4.5.3. NO şi micromediul biochimic 231
4.5.4. Sensibilitatea sau rezistenţa celulară la NO 232
4.5.5. Sursele de NO 232
4.5.6. Participarea mecanismelor efectoare asociate cu NO sau independente de NO la realizarea unor efecte biologice 233
4.5.7. Diferenţe între specii şi tipuri celulare 233
4.6. DONORII DE NO 234
4.7. INHIBITORII DE NO 234
5. MEDICAMENTELE SEDATIVE-HIPNOTICE 240
BENZODIAZEPINELE 240
6. ANALGEZICELE OPIOIDE 242
MORFINA 242
HEROINA 242
METADONA 242
FENTANYL 245
NALOXON 245
7. ANESTEZICELE LOCALE 246
TETRACAINA 246
COCAINA 246
8. ANESTEZICELE GENERALE 248
8.1. ANESTEZICELE GENERALE CU ADMINISTRARE INTRAVENOASĂ 248
THIOPENTAL 248
8.2. ANESTEZICELE GENERALE LICHIDE VOLATILE CU ADMINISTRARE INHALATOARE 248
HALOTAN 248
ENFLURAN 248
ISOFLURAN 248
9. MEDICAMENTE UTILIZATE ÎN TERAPIA BOLILOR PSIHICE 248
9.1. NEUROLEPTICELE 248
9.2. SĂRURILE DE LITIU 249
9.3. ANTIDEPRESIVELE 250
10. ALCOOLUL ETILIC 250
11. MARIJUANA. CANABINOIZII 251

Scanned with OKEN Scanner

12. PSIHOTONICELE....252
13. ANTICONVULSIVANTELE....252
14. SISTEMUL ENDOCRIN ŞI MEDICAMENTELE CU ACŢIUNE PE SISTEMUL ENDOCRIN....252
Hormonii tiroidieni şi antitiroidienele de sinteză....252
Hormonii glucocorticosteroizi....254
Hormonii estrogeni....254
Progesteronul....255
Testosteronul....255
Oxitocina....255
Vasopresina....255
ACTH....255
Prolactina....255
Hormonul de creştere....256
Somatostatina....256
Insulina....256
Glucagonul....256
Parathormonul....256
Melatonina....256
15. VITAMINELE....256
15.1. VITAMINA B1....256
15.2. VITAMINA B6....256
15.3. VITAMINA D....257
15.4. VITAMINA B12....257
15.5 ACIDUL FOLIC....258
15.6. VITAMINE CU EFECTE ANTIOXIDANTE....258
15.6.1. Vitamina A şi β-carotenul....258
15.6.2. Vitamina E....262
15.6.3. Vitamina C....263
16. SELENIUL, CUPRUL, ZINCUL ŞI FIERUL....263
16.1. SELENIUL....263
16.2. CUPRUL ŞI ZINCUL....264
16.3. FIERUL....265
17. AMINOACIZII....266
CISTEINA....266
ARGININA....266
L-ALANINA....267
L-SERINA....267
L-TREONINA....267
L-PROLINA....267
L-ASPARAGINA....267
L-GLUTAMINA....267
L-HISTIDINA....267
HOMOCISTEINA....270
SERINA....270
FENILALANINA....271
GLUTAMATUL....271
ACIDUL GLUTAMIC....271

Scanned with OKEN Scanner

GLICINA 271
TRIPTOFANUL 272
18. S-ADENOSIL-L-METIONINA ŞI ACIZII BILIARI 272
Acidul chenodeoxicolic 272
Acidul ursodeoxicolic 272
SAMe 274
19. AGONIŞTII RECEPTORILOR ADENOZINICI 276
ADENOZINA 276
CGS-21 680 276
20. METILXANTINELE 276
TEOFILINA 276
PENTOXIFILINA 277
21. INHIBITORII DE FOSFODIESTERAZĂ 278
SK 284
F 94 836 284
BENZAFENTRINE 284
Ro 20-1724 284
ZAPRINAST 284
ROLIPRAM 284
CDP 840 285
CILOSTAZOL 285
MKS 492 285
22. BLOCANŢII DE CANALE DE CALCIU 286
VERAPAMIL 286
NIFEDIPINA 286
23. GLICOZIZII CARDIOTONICI ŞI ALTE SUBSTANŢE INDICATE ÎN TRATAMENTUL INSUFICIENŢEI CARDIACE 286
OUABAINA 286
VESNARINONE 286
24. ANTIARITMICELE 287
PROCAINAMIDA 287
25. VASODILATATOARE CU ACŢIUNE DIRECTĂ PE MUSCULATURA NETEDĂ VASCULARĂ 288
26. ANTIBIOTICELE, SULFONAMIDELE, ANTIFUNGICELE, ANTIPROTOZOARELE 288
CLORAMFENICOLUL 289
TETRACICLINELE 289
ERITROMICINA 289
COLIMICINA 289
AMINOGLICOZIDELE 289
RIFAMPICINA 289
SULFONAMIDELE 289
METRONIDAZOLUL 289
POLIMIXINA B 289
PENICILINELE 289
ISONIAZIDA 289
ROXITROMICINA 289
CEFODIZIME 290

Scanned with OKEN Scanner

CEFPIMIZOLE 291
CEFOTAXIME 291
FLUCONAZOL 291
MICONAZOLE 291
KETOCONAZOL 291
ITRACONAZOL 291
AMFOTERICINA B 292
27. SUBSTANȚE BLOCANTE ALE SINTEZEI DE RADICALI LIBERI DE HO˙ 292
DESFEROXAMINA 292
DIMETILTIOUREEA 292
TETRAMETILTIOUREEA 292
GLUTATIONUL 292
N-ACETILCISTEINA 292
ACIDUL ASCORBIC 292
MANITOL 292
LEUCOTRIENELE 293
NDGA 293
ESCULETIN 294
ETYA 294

IV. REACȚII IMUNOLOGICE LA MEDICAMENTE **295**
Tipul I 295
Tipul II 295
Tipul III 296
Tipul IV 296

V. STRATEGII DE SCREENING PENTRU DETECTAREA AGENȚILOR IMUNOTERAPEUTICI **299**
1. Cercetarea efectelor farmacodinamice pe LyT 300
1.1. Testarea funcției imune 300
1.2. Modele experimentale ale bolilor 300
2. Cercetarea efectelor farmacodinamice pe LyB 301
2.1. Testarea funcției imune 301
2.2. Modele experimentale ale bolilor 301
3. Cercetarea efectelor farmacodinamice pe celulele fagocitare 301
3.1. Testarea funcției imune 301
3.2. Modele experimentale ale bolilor 301

BIBLIOGRAFIE **303**

INDEX **331**

Scanned with OKEN Scanner

ABREVIERI

Ac	= anticorp
ACTH	= adrenocorticotrophic hormone *(hormon adrenocorticotrop)*
ADCC	= antibody – dependent cell – mediated cytotoxicity *(citotoxicitatea mediată celular anticorp – dependentă)*
AG	= aminoguanidină
Ag	= antigen
AGE	= advanced glycosylation end product receptor *(lectine cu rol în transmiterea semnalului biologic la suprafața macrofagelor)*
AINS	= antiinflamatoare nesteroidiene
ALG *(GAL)*	= autologous antilymphocyte globulin *(globulina antilimfocitară autologă)*
ALS *(SAL)*	= antilymphocyte serum *(ser antilimfocitar)*
APC	= antigen – presenting cell *(celulă prezentatoare de antigen)*
ATG (*GAT*)	= antithymocyte globulin *(globulina antitimocite)*
ATS (*SAT*)	= antithymocyte serum *(ser antitimocite)*
BALT	= bronchial-associated lymphoid tissue *(țesutul limfoid asociat bronșiilor)*
BCDF	= B-cell differentiation factor *(factor de diferențiere al celulelor B)*
BCGF *(IL-14)*	= B-cell growth factor *(factor de creștere al celulelor B)*
BRM	= biological response modifiers *(modificatorii răspunsului biologic)*
BSF-2	= B cell stimulatory factor 2 *(factorul 2 de stimulare a celulelor B)*
CBG	= corticosteroid-binding globulin *(globulina care leagă corticosteroizii)*
CDCA	= acid chenodeoxicolic
CD_{8+} T CAF	= CD_{8+} T cell antiviral factor *(factorul antiviral al celulelor T_{CD8+})*
CLMF	= cytotoxic lymphocyte maturation factor *(factorul de maturare al limfocitelor citotoxice)*

Scanned with OKEN Scanner

CMIS	= common mucosal immune system *(sistemul imun comun al mucoaselor)*
Con A	= concanavalina A
COX-1	= ciclooxigenaza-1
COX-2	= ciclooxigenaza-2
CRF (*CRH*)	= factor (hormon) eliberator de corticotropină
CS	= "corticostatins – defensis" *(corticostatinele)*
CSF	= colony – stimulating factor *(factor stimulator de colonii)*
CSIF *(IL-10)*	= cytokine synthesis inhibitory factor *(factor inhibitor al sintezei de citokine)*
CSR	= corticosuprarenală
CTLA-8 *(IL-17)*	= cytotoxicTcell lymphocyte – associated antigen *("antigen" asociat LyT citotoxice)*
CTL	= cytotoxic T cells *(celule T citotoxice)*
DARC	= the duffy blood group antigen receptor for chemokines *(receptor pentru chemokine)*
DLE	= dialyzable extract (from human) leukocytes *(extract leucocitar dializat)*
DT-APR	= delayed type – acute phase responses *(răspunsuri de fază acută – tip întârziat)*
ECP	= eosinophil cationic protein *(proteina cationică eozinofilică)*
EDF	= eosinophil differentiation factor *(factor de diferențiere al eozinofilelor)*
ELAM-1	= endothelial leucocyte adhesion molecule 1 *(molecula de adeziune a leucocitelor la endoteliu – 1)*
ENA-78	= chemokină din grupul IL-8
EP *(IL-1)*	= endogenous pyrogen *(pirogenul endogen)*
EPO	= eritropoietină
Fas L	= "Fas ligand" *(ligand "Fas")*
FGF	= fibroblast growth factors *(factorii de creştere ai fibroblastelor)*
FGFR-1 (2)	= FGF receptor [*receptorul pentru FGF-1(2)*]
GABA	= acid gama – aminobutiric
GALT	= gut – associated lymphoid tissue *(țesutul limfoid asociat intestinului)*
GCS	= glucocorticosteroizi
G-CSF	= granulocyte colony – stimulating factor *(factor stimulator al coloniilor de granulocite)*
GH	= hormon de creştere
GIF	= factor de "inducere" a glucocorticosteroizilor
GM-CSF	= granulocyte macrophage colony stimulating factor *(factor stimulator al coloniilor de granulocite – macrofage)*
GPCR	= the G protein – coupled receptor *(receptor cuplat la proteina G)*

Scanned with OKEN Scanner

GRH = hormon eliberator al hormonului de creştere
GVH = graft – versus – host *(grefă – contra – gazdă)*
HAMA = human antimouse antibody *(anticorpi umani antişoarece)*
h IL-10 = human IL-10 *(IL-10 umană)*
HIV = human immunodeficiency virus *(virusul imunodeficienței umane)*
HLG = heterologous antilymphocyte globulin *(globulina antilimfocitară heterologă)*
HMV-BCGF *(IL-14)* = human high – molecular – weight B-cell growth factor *(factor uman de creştere a celulelor B, cu greutate moleculară mare)*
HNP = peptide produse de neutrofilele umane
HSF = factor hepatocitostimulator
ICAM-1 = intercellular adhesion molecule-1 *(moleculă de adeziune intercelulară –1)*
ICE = interleukin –1 beta converting enzyme *(enzima de conversie a IL-1β)*
IFN = interferon
Ig = imunoglobulină
IGIF (*IL-18)* = interferon – gamma inducing factor *(factor inductor al IFNγ)*
IL = interleukină
IL-R = receptor pentru IL
IL-1R rp = IL-1 receptor – related protein *(proteina de legare de pe receptorul pentru IL-1)*
IL-2R = receptorul pentru IL-2
IP-10 = chemokină din grupul IL-8
ITU = (bromură de) S-(2-aminoetil) isotiouronium
LAF = lymphocyte – activating factor *(factorul activator al limfocitului)*
celule LAK = lymphokine activated killer cells *(celule "ucigaşe" activate de limfokine)*
LANAK = lymphokine activated natural killer cells *(celule NK activate de limfokine)*
LCF *(IL-16)* = lymphocyte chemoattractant factor *(factor chemoatractant al limfocitelor)*
LIF = leukemia inhibitory factor *(factor inhibitor al leucemiei)*
L-NA = N^{ω}- nitro – L – arginină
L-NAA = N^{ω}-amino-L-arginină
L-NAME = LN^{G} – nitroarginine methyl ester *(ester de LN^{G} – nitroarginină – metil)*
L-NIO = N^{δ}-imunoetil-L-ornitina
L-NMMA = N^{ω}- monometil – L – arginina
LPS = lipopolizaharid

Scanned with OKEN Scanner

LT	= leucotriene
LyB	= limfocite B
LyTc	= limfocite T citotoxice
LyTh	= limfocite T helper
LyTs	= limfocite T supresoare
LyT	= limfocite T
MAF *(IFN$_\alpha$)*	= macrophage activating factor *(factor activator al macrofagelor)*
MBP	= major basic protein *(proteina bazică majoră)*
MALT	= mucosa – associated lymphoid tissue *(ţesut limfoid asociat mucoaselor)*
MCP-1/JE	= monocyte chemoattractant protein-1 *(proteina-1 chemoatractantă a monocitelor)*
MCP-2	= monocyte chemoattractant protein – 2 *(proteina-2 chemoatractantă a monocitelor)*
MCP-3	= monocyte chemoattractant protein-3 *(proteina-3 chemoatractantă a monocitelor)*
M-CSF	= macrophage colony-stimulating factor *(factor de stimulare a coloniilor de macrofage)*
MEA	= mast cell growth – enhancing activity factor *(factor de stimulare a activităţii şi creşterii mastocitelor)*
MHC	= major histocompatibility complex *(complex major de histocompatibilitate)*
MIF	= macrophage (migration) inhibition factor *(factor de inhibare a migrării macrofagelor)*
MIG	= chemokină cu GM mică din grupul IL-8
MIP-1α/β	= macrophage inflammatory protein - 1α/β *(proteina macrofagică inflamatorie 1 α/β = chemokină cu GM mică din grupul IL-8)*
MIP-2	= macrophage inflammatory protein-2 *(proteina macrofagică inflamatorie 2 = chemokină cu GM mică, din grupul IL-8)*
MSH	= hormon melanocito-stimulator
MTX	= metotrexat
NANCi	= nonadrenergic noncolinergic inhibitor *(sistemul inhibitor neadrenergic, necolinergic)*
NAP-1	= neutrophil activating protein *(proteina-1 activatoare a neutrofilului)*
NCF *(IL-8)*	= neutrophil chemotactic factor *(factor chemotactic al neutrofilului)*
NGF	= nerve growth factor *(factorul de creştere al nervilor)*
7-NI	= 7-nitroindazol
celule NK	= celule "natural killer" *(celule "natural ucigaşe")*

Scanned with OKEN Scanner

NKSF *(IL-12)* = natural killer cell stimulatory factor *(factorul stimulator al celulelor NK)*
NO-sintetaza = NOS
NO-sintetaza constitutivă = NOSc
NO-sintetaza endotelială = NOSe
NO-sintetaza inductibilă = NOSi
NO-sintetaza neuronală = NOSn
PAF = platelet activating factor *(factorul de activare plachetară)*
PAI-1 = plasminogen activator inhibitor-1 *(inhibitor al activatorului plasminogenului-1)*
PDE = phosphodiesterase
PDGF = platelet derived growth factor *(factor de creştere derivat din plachete)*
PG = prostaglandine
PHA = fitohemaglutinină
PHI = dopamina *(hormon inhibitor al prolactinei)*
PMN = polimorfonuclear neutrofil
POMC = proopiomelanocortina
PRL = prolactina
PTH = parathormon
RANTES = regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted *(proteină chemoatractantă eozinofilică şi pentru mastocit = chemokină cu GM mică din grupul IL-8)*
RI = răspunsul imun
SALT = skin-associated lymphoid tissue *(ţesutul limfoid asociat pielii)*
SAMe = S-adenosil-L-metionina
SE = sistemul endocrin
SI = sistemul imunitar
SIV = simian immunodeficiency virus *(virusul imunodeficienţei la maimuţe)*
SN = sistemul nervos
SNV = sistemul nervos vegetativ
SOM = somatostatina
SP = substanţa P
TCGF = T cell growth factor *(factor de creştere al celulelor T)*
TDRF = tumor – derived recognition factor *(factor de recunoaştere derivat din tumori)*
TGF = transforming growth factor *(factorul de transformare a creşterii)*
TIL = tumor infiltrating lymphocytes *(limfocite care se "infiltrează" în tumori)*
TNF = tumor necrosis factor *(factorul de necroză tumorală)*

Scanned with OKEN Scanner

t-PA = tissue plasminogen activator *(activatorul tisular al plasminogenului)*

TRF = T cell replacing factor *(factorul de înlocuire al celulelor T)*

TRH = hormon eliberator al tirotropinei

TSH = tirotropina

TX = tromboxan

UDCA = acid ursodeoxicolic

v IL-10 = viral IL-10 *(IL-10 virală)*

VIP = vasoactive intestinal polypeptide *(polipeptidul vasoactiv intestinal)*

VEGF = vascular endothelial growth factor *(factorul de creştere a endoteliului vascular)*

VCAM-1 = vascular cell adhesion molecule-1 *(moleculă de adeziune celulară vasculară –1)*

VLA = very late antigen *(moleculă de adeziune – integrină)*

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

Imunopatologia, aprofundarea mecanismelor moleculare ale bolilor sistemului imunitar, a permis fundamentarea unor progrese remarcabile în domeniul terapiei acestor afecțiuni.

Implicit, dinamica impresionantă a cercetării mijloacelor imunofarmacologice are cel puțin două tipuri de consecințe: schimbă semnificativ prognosticul unor boli cu mecanism imun, constituindu-se totodată şi în instrumente de cercetare şi de progres în elucidarea mecanismului unor boli imunitare sau cu componentă majoră imunopatologică.

Abordarea farmacoterapeutică a patologiei sistemului imun implică, pe de o parte, o caracterizare adecvată clinică şi imunologică a cazului în discuție, iar pe de altă parte, o profundă cunoaştere a mijloacelor imunofarmacologice şi a criteriilor selective şi de opțiune terapeutică pentru cazul în speță.

La ora actuală există relativ puține monografii, manuale sau tratate care să abordeze o sistematizare şi aducere la zi a mijloacelor terapeutice imunofarmacologice.

De aceea, lucrarea doamnei Conf. Dr. Cătălina-Elena Lupuşoru intitulată *Imunofarmacologie* constituie un efort remarcabil de sistematizare a unei literaturi ştiințifice bogate, cu date adesea contradictorii.

Autoarea abordează prezentarea lucrării în cinci mari capitole: imunomodularea ca mecanism fundamental al răspunsului imun şi implicit, descrierea verigilor imunomodulării farmacologice (imunosupresie şi imunostimulare); descrierea efectelor medicamentelor din diverse clase terapeutice asupra sistemului imun şi consecințele în plan clinic; reacții imunologice la medicamente, şi, de un interes practic special, metodologii

de screening al agenţilor imunofarmacologici şi modelele experimentale ale bolilor imune.

Capitolul II, în care se descriu în detaliu mecanismele imunosupresiei prin agenţi chimici, respectiv medicamentoşi, prezintă o importanţă deosebită în cunoaşterea adecvată a farmacologiei acestor preparate utilizate curent în ţara noastră. Ne gândim în special la medicamentele utilizate pentru prevenirea rejectării organelor transplantate. În acelaşi capitol sunt descrise interferonii şi interleukinele, "modificatori ai răspunsului biologic".

Un loc distinct ocupă prezentarea imunomodulatorilor bacterieni (mono- şi polibacterieni), fungici, de origine vegetală, inductori de citokine etc.

Autoarea face, astfel, o sinteză utilă medicului practician a datelor privind unele produse tip "imunomodulatori polibacterieni" asupra cărora, în timp, atât sub aspectul constituenţilor, cât şi asupra dovezilor de eficienţă terapeutică, s-au purtat numeroase discuţii.

De importanţă practică deosebită apreciem şi abordarea detaliată a efectelor unor medicamente asupra sistemului imunitar, efecte care fie pot fi considerate efecte nedorite, fie pot fi utilizate în anumite contexte clinice în sensul obţinerii unor beneficii terapeutice.

Credem de asemenea, că prezintă un interes deosebit pentru cititorul avizat subcapitolul neuro-imuno-endocrino-modulării, în care interconexiunile complexe pe de o parte şi nu rareori, căile finale comune la nivelul verigilor efectoare ale proceselor de reglare şi control ale proceselor fundamentale celulare pe de altă parte, impun o bună şi corectă evaluare a domeniului.

Cu aceste sumare consideraţii credem că *Imunofarmacologia* elaborată de doamna Conf. Dr. Cătălina-Elena Lupuşoru reprezintă un aport deosebit, atât în planul concepţiei şi structurării unui amplu material bibliografic, cât şi a modului în care a reuşit să redea aceste date într-o lucrare unitară.

Prof. Univ. Dr. VICTOR VOICU
Membru corespondent al Academiei Române,
Preşedintele Societăţii Române de Farmacologie,
Terapeutică şi Toxicologie Clinică

Bucureşti
2001

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

CUVÂNT ÎNAINTE

Cartea *Imunofarmacologie* abordează probleme complexe, moderne şi cu deosebite implicaţii fundamentale şi practice.

Dezvoltarea impetuoasă în ultimele decenii a imunologiei, a făcut posibilă descifrarea, de cele mai multe ori parţială, a unor modalităţi de dirijare a răspunsului imun, nu numai prin substanţe naturale, produse de organismul uman, ci şi prin unele molecule cu surse microbiene, vegetale sau de sinteză, care s-au dovedit stimulatoare/supresoare asupra unor componente umorale sau celulare ale sistemului imunitar.

Pornind de la elementele de bază ale imunologiei, s-au demonstrat interacţiuni între sistemul nervos, sistemul endocrin şi sistemul imunitar. Mai mult, s-a ajuns la concluzia că orice medicament cu diverse indicaţii terapeutice poate acţiona sinergic sau în sens stimulator ori inhibitor asupra componentelor sistemului imunitar, punându-se bazele unei ştiinţe de graniţă, ***imunofarmacologia,*** care tinde să obţină un rol din ce în ce mai important în cadrul ştiinţelor medicale datorită vastelor posibilităţi terapeutice pe care le oferă.

Dezvoltarea studiului agenţilor imunoterapeutici se bazează pe următoarele considerente:

- o funcţie normală imunitară este necesară pentru homeostazie; un răspuns imunitar insuficient sau orientat greşit poate determina boli severe, uneori, cu risc vital;
- funcţia imunitară dereglată constituie o caracteristică în unele boli, incluzând formele variate de cancer, boli autoimune (ca, de exemplu, artrita reumatoidă, lupusul eritematos sistemic) sau boli cu imunodeficienţe primare sau secundare.

În prezent s-a constatat că şi comportamentul psihoafectiv, starea psihică, diferite boli neuropsihice, substanţe farmacologic active cu efect în

sfera psiho-neurologică, prezintă şi acţiuni asupra sistemului imunitar, în sens pozitiv sau negativ.

În acest context, o lucrare despre imunofarmacologie – elemente fundamentale şi practice – este în mod obligatoriu necesară.

Descoperirea imunomodulatorilor nespecifici – trataţi pe larg în cartea *Imunofarmacologie* – a generat speranţe şi entuziasm. Entuziasmul s-a păstrat, iar speranţa – cu toate fluctuaţiile înregistrate – a rămas. Fluctuaţiile în terapia cu imunomodulatori au fost generate de o serie de factori, cum ar fi: stadiul bolii în momentul începerii tratamentului, competenţa imună a pacienţilor, tulpina de germeni, doza, calea de inoculare, momentul începerii tratamentului raportat, de exemplu, la momentul intervenţiei chirurgicale, iradierii, chimioterapiei (situaţii în care imunomodulatorii sunt utilizaţi ca adjuvanţi terapeutici) etc.

În multe cazuri au fost obţinute efecte contrare celor scontate, fapt care a determinat pe unii autori să afirme că terapia nespecifică este un risc şi nu o binefacere. Pentru evitarea riscurilor potenţiale ale terapiei cu imunomodulatori şi pentru obţinerea de rezultate benefice, se impune cercetarea fundamentală a modului de identificare a imunomodulatorilor, a mecanismului lor de acţiune, precum şi a căilor de administrare. În cazul neoplaziilor, se impune asocierea judicioasă a terapiei imunomodulatoare nespecifice cu terapia specifică antineoplazică, deoarece numai distrugând tumora şi stimulând sistemul imun se pot obţine rezultate evidente. În orice caz, modularea nespecifică a răspunsului imun rămâne o problemă deschisă, plină de necunoscute, dar şi de atracţii, atât pentru cercetător, cât şi pentru clinician.

Imunomodulatorii pot acţiona atât asupra funcţiilor sistemului imun, cât şi asupra altor funcţii biologice ale organismului (temperatura corporală, eliberarea de radicali de oxigen, metabolismul fierului, eliminarea unor factori nocivi, restabilirea raportului normal între agenţii florei intestinale). Cartea încearcă să elucideze mecanismele care stau la baza acestor activităţi complexe. Deoarece multe preparate modulează, dar şi stimulează reacţiile imune, o delimitare absolut categorică între aceste două grupe este greu de făcut, multe dintre ele acţionând atât ca imunomodulatori, cât şi ca adjuvanţi. Modul şi mecanismele de acţiune ale imunomodulatorilor diferă, însă, fundamental, de cele ale adjuvanţilor, deşi uneori ele par să aibă efecte asemănătoare.

O administrare corectă a imunomodulatorilor trebuie să se bazeze, în primul rând, pe date obiective referitoare la mecanismele lor de acţiune şi, dacă este posibil, pe cunoaşterea exactă a status-ului imun al pacientului la care se impune aplicarea terapiei sau profilaxiei cu imunomodulatori.

Scanned with OKEN Scanner

Trebuie subliniat faptul că o cunoaştere reală a potenţialului imun al organismului nu poate fi realizată numai prin estimarea titrului anticorpilor serici faţă de unele bacterii sau virusuri. Numai un studiu complex şi o evaluare a unui număr cât mai mare de funcţii imune pot fi într-adevăr relevante.

De asemenea, trebuie subliniat faptul că imunomodulatorii, ca multe alte produse biologice sau preparate de sinteză, sunt mai eficienţi atunci când sunt administraţi preventiv, decât atunci când sunt administraţi curativ, afirmaţia fiind valabilă în special în cazul bolilor neoplazice. Majoritatea imunomodulatorilor, ca "modificatori ai răspunsului biologic în favoarea gazdei", acţionează asupra mecanismelor imunitare, acestea devenind mult mai eficiente în controlul proceselor infecţioase, al formării tumorilor primare sau în controlul metastazării acestor tumori. În cartea *Imunofarmacologie* sunt prezentaţi imunomodulatorii din generaţiile I, II şi III, accentuându-se asupra imunomodulatorilor din generaţia a III-a, compuşi obţinuţi prin sinteză chimică sau prin tehnologii genetice. Compuşii sintetici au generat mari speranţe pentru imunoterapie, deoarece ei pot fi produşi în cantităţi mari şi în condiţii riguroase de control al structurii lor, fără a prezenta efectele adverse cunoscute ale imunomodulatorilor din primele două generaţii.

Devine evident faptul că substanţe de sinteză, cu structură mult mai simplă, pot acţiona pe receptorii şi pe enzimele celulelor sistemului imun şi că oferă o alternativă foarte bogată în posibilităţi de realizare de noi medicamente puternice, selective, uşor de manipulat, incomparabil mai ieftine decât o bună parte a agenţilor realizaţi prin strategie clasică.

În acest context, era aşteptată o clasificare şi o definire a principalelor grupe de imunomodulatori utilizaţi în practica medicală sau aflaţi în diverse stadii experimentale, ceea ce cartea reuşeşte să o realizeze într-o manieră accesibilă.

Inflamaţia şi interacţiunile sale cu imunitatea constituie una din marile probleme ridicate de posibilităţile de apărare ale organismului uman. Astfel, sunt de remarcat capitolele dedicate inflamaţiei şi posibilităţilor de utilizare a factorilor implicaţi în acest proces, în scop imunomodulator. Menţionarea citokinelor implicate în inflamaţie, a receptorilor solubili pentru unele din aceste citokine, precum şi sinteza despre astmul bronşic, ca o formă particulară de inflamaţie alergică, integrează multitudinea de date din acest domeniu şi dau posibilitatea avansării unor ipoteze practice în imunofarmacologia viitorului.

Scanned with OKEN Scanner

La toate acestea se adaugă atributul de *premieră* a acestui subiect în țara noastră, o primă încercare de a defini principalele capitole ale ***imunofarmacologiei.***

Cartea este laborioasă, a necesitat ani de activitate şi o deosebită pregătire fundamentală în această problemă. Are caracter de originalitate şi o reală valoare ştiinţifică într-un domeniu nou şi de mare actualitate.

Prof. Univ. Dr. MIRCEA PAVELESCU

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

I. INTRODUCERE

În secolul nostru, cercetarea farmacologică a cunoscut un ritm impresionant de dezvoltare, noi noţiuni, ipoteze şi modele de cercetare apărând într-un ritm alert şi realizând promovarea pe piaţă a unui important număr de medicamente.

Mecanismul de acţiune al substanţelor farmacologic active presupune aproape întotdeauna interacţiuni cu diverşi constituenţi ai organismului la nivel molecular, cu influenţarea primară a funcţiilor organismelor la diverse niveluri de organizare şi declanşând secundar reacţii din partea diferitelor aparate şi sisteme, reacţii homeostatic-adaptative care reprezintă riposta organismului la medicament.

În condiţiile spectaculoasei explozii informaţionale din imunologie, comparabilă, în cadrul ştiinţelor medicale, doar cu cea a geneticii, s-au studiat numeroase preparate în scopul obţinerii unor posibilităţii mai eficiente de stimulare a imunităţii şi, respectiv, de inhibare a ei (corecţia terapeutică a unor reacţii imunologice de tipul autoagresiunii, hipersensibilităţii întârziate, rejecţie a grefelor etc).

Pe de altă parte, observaţiile clinice şi, mai ales cercetările de laborator efectuate în ultimii ani au conturat concepţia unui integrat biologic unitar, controlat prin trei mari sisteme "de comunicaţie": sistem nervos, sistem endocrin şi sistem imunitar. Funcţionarea acestor trei sisteme se află întotdeauna într-un echilibru dinamic: în permanenţă balanţa va înclina într-o parte sau în alta şi se va redresa prin sisteme de feed-back. Ca urmare a interrelaţiei ***sistem nervos – sistem endocrin – sistem imunitar*** , există posibilitatea ca diferite grupe de medicamente destinate tratamentului afecţiunilor diferitelor aparate şi sisteme să influenţeze şi componente ale sistemului imunitar, tot aşa cum imunomodulatorii pot avea efecte secundare asupra diferitelor sisteme ale organismului uman. Aceste aspecte impun lărgirea ariei de cercetare a medicamentelor nou introduse în terapie.

Astfel, devine necesară introducerea unor noi teste care să evalueze, alături de efectele farmacodinamice clasic investigate şi efectele asupra sistemului imunitar, iar alături de toxicitatea acută şi cronică, generală şi specifică de organ a medicamentelor şi pe aceea a potenţialului lor imunotoxic.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

II. IMUNOMODULAREA

Imunomodularea reprezintă reglarea intrinsecă sau provocată a iniţierii, nivelului şi duratei răspunsului imun [4, 50, 101, 105, 189, 200].

După mijloacele de realizare, **tipurile de imunomodulare** pot fi clasificate astfel [148]:

1. Imunomodularea **intrinsecă**
2. Imunomodularea **provocată**, cu subtipurile:
   2.1. *Selectivă*, care cuprinde:
      2.1.1. Imunosupresia:
         2.1.1.1. Specifică (hiposensibilizare)
         2.1.1.2. Nespecifică (cu agenţi sau factori imunosupresivi)
      2.1.2. Imunostimularea:
         2.1.2.1. Specifică: a. activă
                  b. pasivă
         2.1.2.2. Nespecifică (cu imunoadjuvanţi)
   2.2. *Neselectivă* (cu imunomodulatori neselectivi).

1. IMUNOMODULAREA INTRINSECĂ

Imunomodularea intrinsecă include mijloacele de asigurare a imunomodulării fiziologice, în sens stimulator sau inhibitor, în funcţie de necesităţile de apărare specifică ale organismului la un moment dat [4, 44, 235]. Când se impune stimularea şi menţinerea stimulării imunităţii faţă de un anumit Ag predomină mecanismele de stimulare, iar atunci când un efort suplimentar al sistemului imunitar ar dăuna economiei generale a organismului se intensifică mecanismele imunofrenatoare.

1.1. PRINCIPALELE SISTEME ALE IMUNOMODULĂRII INTRINSECI sunt reprezentate de:

- formarea punţilor mecanice intercelulare LyTh – LyB sau macrofage – LyTh – LyB;
- cascada interleukinică;
- relaţia idiotip – anti-idiotip (ce realizează modularea iniţierii RI umoral, activarea LyT de către celulele T inductoare şi dublul control dependent de LyTs, exercitat asupra limfocitelor Th şi B).

1.2. NEURO–IMUNO–ENDOCRINO–MODULAREA

Sistemul imun (SI) nu poate fi imaginat ca o simplă colecţie de celule mieloide şi limfoide, care "rătăcesc" printre celulele tisulare fără nici o legătură cu mecanismele de coordonare ale organismului. Astfel, se ştie că orice celulă din organismul viu are posibilitatea de a recepţiona un anumit mesaj din mediul extern sau extracelular. În funcţie de rolul pe care îl joacă celula în organism, acest mesaj, odată primit, poate fi: indiferent, de mică importanţă sau de importanţă majoră, vitală pentru funcţia ei. Mesajul, odată acceptat de celulă, este dirijat în interiorul ei, prelucrat şi transformat într-un răspuns care apoi este transmis mediului înconjurător, de data aceasta, plecat de la o celulă către o altă celulă. Aceasta se realizează prin intermediul unui ***sistem integrat*** de recepţie, prelucrare şi transmisie a mesajelor, denumit ***MEDIATOR–RECEPTOR–MESAGER SECUND*** (M–R–M_{II}). Sistemul unitar M-R-M_{II} este implicat într-o serie de procese integrative ale organismului şi este controlat prin trei mari sisteme de "comunicaţie": sistem nervos, sistem endocrin şi sistem imun [148].

Funcţia sistemului imun este influenţată de hormoni şi neurotransmiţători, pentru care s-au evidenţiat receptori membranari pe limfocite (receptori pentru corticoizi, insulină, somatotrop, estradiol, testosteron, agenţi alfa- şi beta-adrenergici, acetilcolină, endorfine, enkefaline etc.).

Glucocorticosteroizii, androgenii, estrogenii şi progesteronul reduc răspunsul imun, pe când somatotropul, tiroxina şi insulina, dimpotrivă, îl amplifică. Suprimarea secreţiei de glucocorticosteroizi prin suprarenalectomie sau creşterea secreţiei în condiţii de stres determină variaţii în numărul celulelor secretoare de anticorpi. Blocarea producţiei de Prolactină (PRL) prin Bromocriptină împiedică activitatea LyTh. Pe de altă parte, Ciclosporina A, care acţionează ca un inhibitor selectiv al LyTh, dislocă prolactina de pe receptorii membranei limfocitare [148].

Influenţa sistemului nervos asupra sistemului imun este atestată în mod direct de o bogată inervaţie vegetativă a organelor hematoformatoare.

Scanned with OKEN Scanner

Simpatectomia chimică efectuată cu ajutorul 6-hidroxidopaminei, în perioada neonatală la animale, sau denervarea splinei intensifică răspunsul imun. Există o relație anatomică intimă între mastocite (participante active la reacțiile inflamatorii, alergice și anafilactice) și terminațiile nervoase. Factorii de creștere ai țesutului nervos determină degranularea mastocitelor. Proliferarea limfocitelor din plăcile lui Peyer (situate în tractul gastro-intestinal) este stimulată de substanța P și inhibată de somatostatină, precum și de polipeptidul vasoactiv intestinal (VIP) [148, 225].

Celulele limfoide posedă receptori pentru ACTH și β-endorfine.

ACTH, MSH și β-endorfina posedă un precursor comun proopiomelanocortina (POMC).

Celulele limfoide pot fi activate de antigene și pot secreta o mare varietate de citokine care sunt importante molecule imunoreglatoare. Multe dintre aceste citokine (IL-1, IL-2, IFN-α) au rol de a modula și activitatea țesuturilor neuroendocrine [148]. S-a demonstrat, de asemenea, sinteza hormonilor hipofizari clasici (ACTH, vasopresina și oxitocina) de către celule ale sistemului imunitar (Fig. 1).

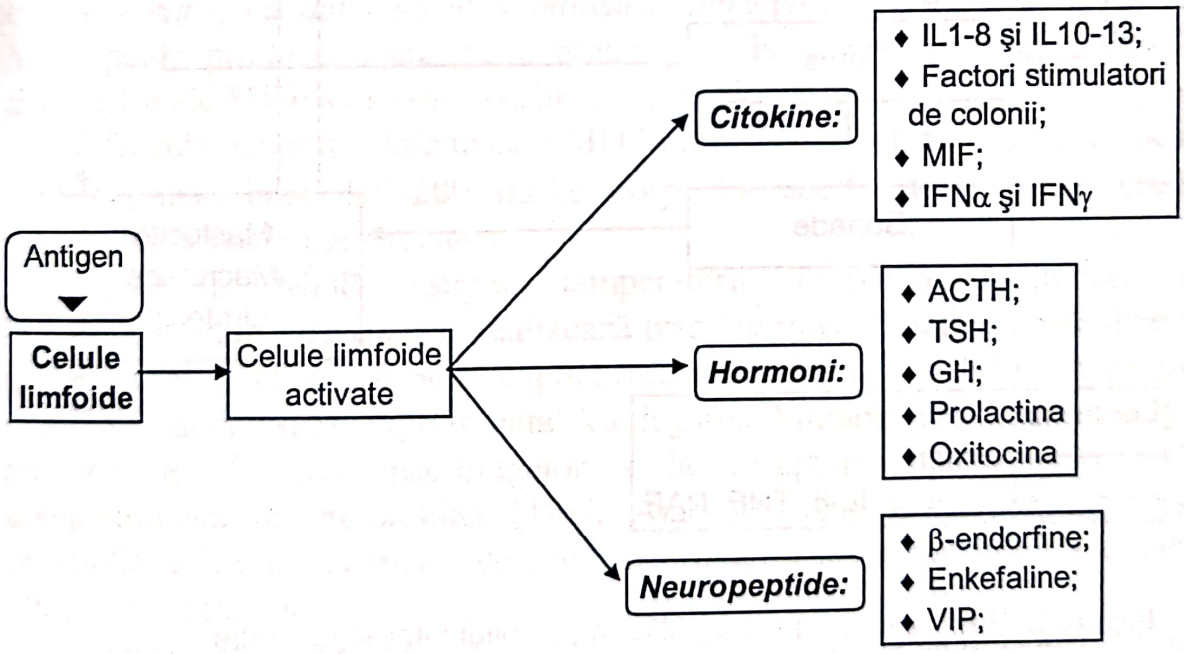


Figura 1. Molecule reglatoare comune sistemului imunitar, sistemului nervos și sistemului endocrin
După Hollie J. Westly și colab. [220]

În timus, organ limfoid primar, s-au identificat hormoni neurohipofizari (vasopresină, oxitocină și neurofisină - proteină cu rol de transport și de depozit pentru oxitocină și vasopresină). VIP este sintetizat

Scanned with OKEN Scanner

şi/sau depozitat în neutrofile şi mastocite. Celulele limfoide activate (cu enterotoxina A stafilococică) pot produce TSH [148].

A. Nowotny, în 1992, a sugerat existența unei axe umorale, a unei interacţiuni între hipotalamus şi organele imunocompetente [citat bibl., 148]. Câţiva ani mai târziu, s-a descris ansa de feed-back negativ între creier şi sistemul imunitar, axa hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană [Bianca Marchetti şi colaboratorii, 1994; citaţi bibl. 148], precum şi axa limfoid-corticosuprarenaliană de reglare a secreţiei neurohormonale a limfocitelor (Fig. 2).

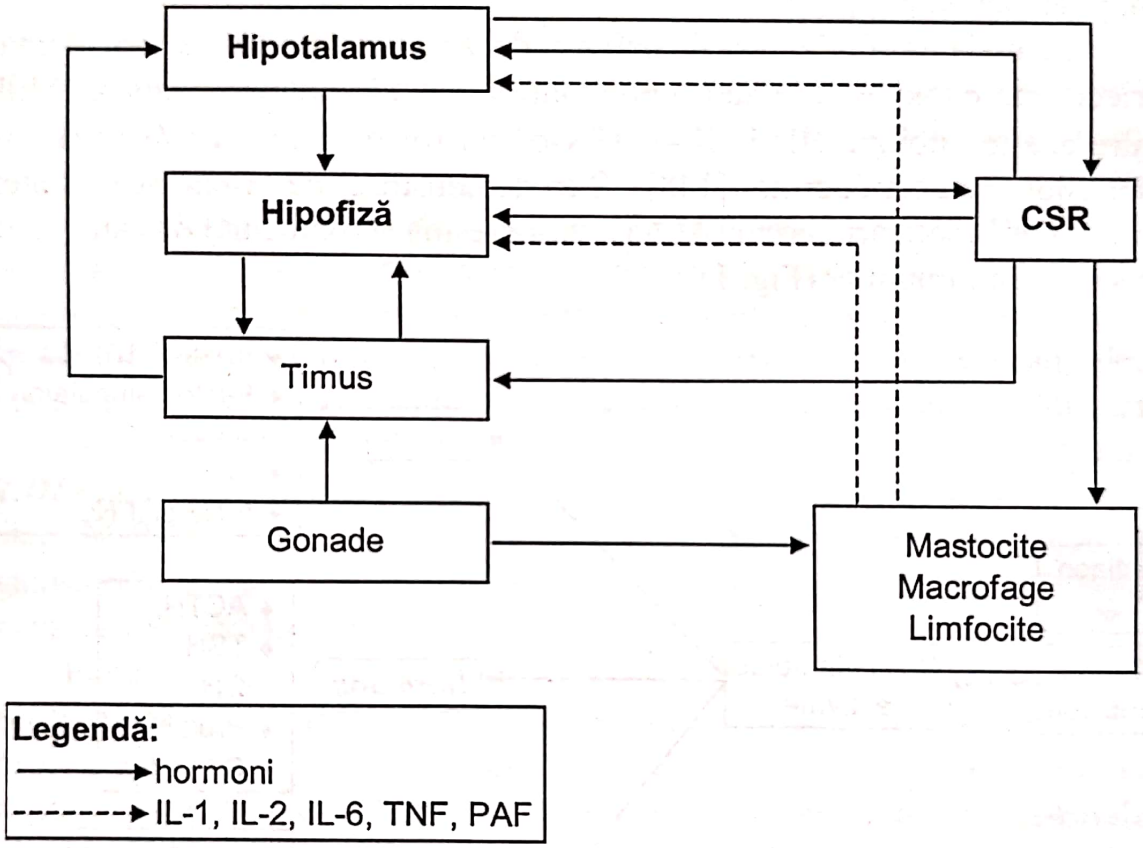


Figura 2. Reprezentarea schematică a posibilei interacţiuni între axa hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană, produşii solubili ai sistemului imunitar, timus şi hormonii gonadali
După Bianca Marchetti şi colab. [208]

K. Mašek, în 1997 [159], prezintă efectele unui imunostimulator nespecific, Muramil-dipeptidul (MDP), asupra SNC şi precizează circuitele neuronale implicate în realizarea răspunsului imun. Astfel, MDP este implicat în promovarea somnului, inducerea febrei şi prezintă efect

Scanned with OKEN Scanner

analgezic. De asemenea, MDP, dependent de doză, influenţează comportamentul social. Aceste efecte sunt controlate de aceleaşi structuri ale SNC care reglează acţiunile imunostimulatorii ale MDP.

Doza minimă pirogenică de MDP, în cazul administrării intravenoase la iepuri, este egală cu 25 μg/kg corp, iar, în cazul administrării intracerebreoventriculare, această doză este egală cu 0,13 ng/kg corp. La aceste doze, MDP produce efecte directe asupra structurilor termoreglatoare [159].

Dozele hipnotice ale MDP au fost stabilite la următoarele niveluri [159]:

- la doza de 25 μg/kg, s-a constat efect hipnotic, cu mişcări rapide ale globilor oculari (REM);
- la doza de 500 μg/kg, s-a înregistrat efect hipnotic, cu inhibare profundă a REM.

Datele experimentale indică faptul că, cel puţin parţial, acest efect este mediat prin intermediul structurilor serotoninergice [159].

Utilizând două metode diferite, testul *hot plate* şi testul chimic (*testul contorsionării, cu acid acetic administrat intraperitoneal),* s-a constatat că MDP poate produce o analgezie tranzitorie, de intensitate medie. Dozele analgezice ale MDP sunt cuprinse între 1-2 mg/kg corp [159].

Dozele experimentale în care MDP influenţează comportamentul social sunt cuprinse între 100-200 μg/kg corp. La aceste doze, MDP creşte timiditatea şi scade agresivitatea.

Efectele MDP asupra temperaturii corporale, hipnozei şi hipersensibilităţii întârziate se realizează prin intermediul acţiunii sale directe pe receptorii 5-HT pre- şi postsinaptici (receptorii 5-HT_1 şi 5-HT_3). Pe de altă parte, s-a demonstrat experimental că legarea Muramil-peptidelor (MP) - reglatori ai funcţiei macrofagelor - la receptorii macrofagelor este competiţionată de Serotonină [198]. Atât MP, cât şi Serotonina cresc producţia de anion-superoxid de către macrofage [Silverman DHS şi colab., 1985; citaţi bibl. 198].

Date experimentale demonstrează că Serotonina acţionează ca un agonist MP-like, prin creşterea fagocitării bacilului Koch de către macrofagele peritoneale de şoarece şi ca un agonist parţial în inducerea ARNm pentru comanda sintezei de TNFα de către macrofage [198]. Aceste date sugerează ipoteza implicării Serotoninei în medierea răspunsului sistemului imun la acţiunea MP [Mašek K. şi colab., 1973; citaţi bibl. 198], receptorii pentru Serotonină fiind prezenţi la nivelul macrofagelor. De asemenea, s-a demonstrat experimental că MP competiţionează cu

Scanned with OKEN Scanner

mecanismul recaptării Serotoninei şi cu receptorii 5-HT_2 de pe plachetele umane [Polanski M., şi Karnoski M.L., 1992; citaţi bibl. 198].

Serotonina nu influenţează, însă, producerea de IL-1β de către macrofage, ceea ce sugerează mecanisme diferite de sinteză ale TNFα şi ale IL-1 de către aceste celule ale sistemului imunitar.

MP şi Serotonina sunt implicate în mecanismul somnului [Krueger J.M. şi colab., 1982, 1984; Pappenheimer J.R. şi colab., 1975; Mašek K. şi Kadleková, 1987; citaţi bibl. 198], competiţionând pentru aceleaşi situsuri de legare [Root-Bernstein R.S. şi Westall F.C., 1990; Silverman D.H.S. şi colab., 1985, 1986, 1989; citaţi bibl. 198] şi pentru "ţinte" cu aceleaşi răspunsuri funcţionale.

Efectele MDP, în doza hipnotică (25 μg/kg corp), se realizează prin acţiunea pe medulla oblongata şi la nivelul punţii. Aceleaşi regiuni ale SNC care deţin controlul asupra hipersensibilităţii întârziate, intervin şi în reglarea proceselor proliferative din splină şi timus.

MDP stimulează musculatura netedă în mod similar cu Serotonina [Kadlec K. şi colab., 1984; citaţi bibl. 198]. În acest fenomen este posibilă implicarea unei modulări neuro-imune.

Efectele Serotoninei asupra sistemului imun pot servi ca o ansă feed-back a SNC care asigură controlul sistemului imun de către sistemul nervos [198].

1.2.1. Stresul şi sistemul imun

1.2.1.1. Stresul cronic şi imunitatea [108, 133, 189]

Numeroase studii din literatura de specialitate corelează starea depresivă cu unele anomalii ale răspunsului imun, cum ar fi o creştere a numărului de elemente figurate albe din sângele periferic, afectarea subpopulaţiilor de leucocite, inhibarea activităţii citotoxice a celulelor NK, niveluri crescute ale unor categorii de anticorpi şi proteine de fază acută. Unele din aceste modificări au fost atribuite reacţiilor autoimunologice. Deşi posibilităţile de a evalua unele reacţii la pacienţi depresivi sunt limitate, un model animal al depresiei ar putea simula această situaţie clinică şi s-ar putea accepta modelul ca o stare de stres cronic de intensitate medie.

După un stres de trei săptămâni, la şoarecii C57BL/6, s-a constatat o scădere a greutăţii timusului, creşterea producţiei de IL-1 şi scăderea producţiei de IL-2, scăderea activităţii de răspuns a celulelor NK la conA

şi la anticorpii anti-CD3 monoclonali, creşterea răspunsului proliferativ al splenocitelor stimulate cu LPS şi mitogenic (PWM).

Scanned with OKEN Scanner

Aceste date sugerează că stresul cronic induce activarea celulelor supresoare în splină, datorită înlăturării din funcţie a celulelor CD8+, produce creşterea proliferării splenocitelor (limfocite T), ca răspuns la mitogene.

Studii recente au demonstrat că la pacienţii cu stres cronic se produce o creştere a nivelurilor de LyTh, LyT cu memorie şi de limfocite B [Maes şi colab., 1995; citaţi bibl. 133], o creştere a nivelurilor de anticorpi anti-fosfolipide, anticorpi anti-nucleari, anticorpi anti-*Epstein Barr*, a nivelurilor de fracţii C3 şi C4 ale complementului seric, o creştere a proteinelor de fază acută, o creştere a concentraţiei de IL-1, IL-2, IFNγ şi o creştere a densităţii receptorilor solubili pentru IL-2 şi IL-6.

Stresul cronic nu numai că este un factor precipitant în psihozele afective (cum ar fi, depresia), dar se pare că produce şi o intensifucare a episoadelor de depresie [Leonard, 1995; Irwin şi colab., 1987; citaţi bibl. 133].

S-a demonstrat o creştere semnificativă a nivelului IL-1 în splină, la şoareci supuşi experimental unui stres cronic. IL-1 produsă periferic stimulează sinteza hormonilor axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană şi determină o creştere a neurotransmisiei catecolaminergice în creier. Creşterea nivelurilor IL-1 exercită un efect imunosupresor prin stimularea eliberării monoaminelor şi CRF din diferite regiuni ale creierului [Friedman şi colab., 1994; Irwin şi colab., 1988; citaţi bibl. 133].

IL-1 produsă în periferie poate acţiona în mod direct la nivelul creierului, predominant asupra structurilor sale circumventriculare pe calea organum vasculosum a laminei terminalis şi, parţial, scăzând funcţionalitatea barierei hematoencefalice [Mandrup - Poulsch şi colab., 1995; citaţi bibl. 133]. IL-1 poate traversa bariera hematoencefalică prin transport activ şi poate influenţa activitatea creierului pe o cale nervoasă, calea neuronilor aferenţi ai nervului vag [Banks şi colab., 1991; Bluthe şi colab., 1994; citaţi bibl. 133]. IL-1 stimulează secreţia CRF din celulele nucleului hipotalamic paraventricular şi secreţia de ACTH de către hipofiză, conducând la stimularea secreţiei glucocorticosteroizilor [Sapolsky şi colab., 1987; citaţi bibl. 133].

CRF, ACTH şi glucocorticosteroizii inhibă diferite funcţii imunologice: administrarea exogenă, sistemică şi centrală de CRF inhibă proliferarea limfocitelor T şi activitatea celulelor NK. Ultimul efect a fost observat pe şobolani intacţi şi adrenalectomizaţi, în schimb efectul supresor al CRF asupra imunităţii celulare nu poate fi mediat prin

Scanned with OKEN Scanner

glucocorticosteroizi, ci mai mult pe calea sistemului nervos simpatic [Song şi colab., 1995; citaţi bibl. 133].

Niveluri crescute de glucocorticosteroizi conduc la atrofia organelor limfoide şi la o profundă supresie, atât a mecanismelor imune mediate umoral, cât şi a celor mediate celular. Scăderea semnificativă a greutăţii timusului la şoareci deprimaţi experimental poate fi rezultatul nivelurilor crescute de glucocorticosteroizi, care conduc, în cascadă, la liza timocitelor imature sensibile la acţiunea glucocorticosteroizilor. Supresia funcţiilor celulelor T şi a celulelor NK de către glucocorticosteroizi se pare că este legată de inhibarea sintezei IL-2, care acţionează ca factor de creştere a limfocitelor T şi ca stimulator al activităţii celulelor NK citotoxice. Scăderea semnificativă a producţiei de IL-2 la animale de laborator supuse unui stres cronic este, probabil, legată de o creştere, atât a nivelurilor de CRF, cât şi a nivelurilor de glucocorticosteroizi [Kelso A. şi Munck A., 1984; citaţi bibl. 133].

Supresia splenocitelor la şoareci stresaţi experimental se pare că este conectată, de asemenea, cu acumularea în splină a limfocitelor T cu activitate supresoare şi cu exprimarea receptorilor CD8.

Nu numai subpopulaţiile de limfocite diferă în exprimarea receptorilor β-adrenergici, dar şi modificările în neurotransmisia noradrenergică conduc la modificări în distribuţia subpopulaţiilor de limfocite între sânge şi organele limfatice [Khan M.M. şi colab., 1986; Benschapet R.J. şi colab., 1996; citaţi bibl. 133]. Totodată, modificările induse de stresul acut în neurotransmisia neuroadrenergică pot conduce la o acumulare selectivă a limfocitelor T supresoare în splină, realizând o exprimare crescută a receptorilor β-adrenergici [Van Tits L.J. şi colab., 1990; citaţi bibl. 133].

Se poate concluziona că scăderea imunităţii celulare în timpul stresului cronic este asociată cu o creştere a sintezei de IL-1, iar perioadele de stres mai scurte sau mai lungi pot avea un impact diferit cu acest fenomen. Secreţia indusă de stres, a unor substanţe variate, este urmată de sinteza de factori implicaţi în restabilirea răspunsului imun normal [133].

1.2.1.2. Stresul, neuropeptidele şi imunomodularea

Stresul induce eliberarea din hipofiză a ACTH, PRL şi GH [41, 108, 131, 134, 152, 219].

ACTH determină, la rândul său, eliberarea de GCS, conducând la un efect imunosupresor. Experimental, deficitul imun indus prin hipofizectomie

Scanned with OKEN Scanner

poate fi corectat prin administrare de GH sau PRL. ACTH are, deci, efect imunosupresor, iar GH şi PRL au efecte imunostimulatoare.

Hipotalamusul modulează răspunsul imun, pe de o parte prin hormonii care reglează secreţia hormonală hipofizară, iar pe de altă parte prin stimularea SNV. Stresul activează componenta simpatică a SNV şi, prin intermediul receptorilor β-adrenergici (localizaţi pe celulele componente ale SI: macrofage, mastocite, neutrofile, limfocite T), este mediată imunosupresia.

Eliberarea de ACTH este controlată de ***CRF***. ***Vasopresina*** şi ***Oxitocina*** prezintă de asemenea, o activitate intrinsecă de eliberare la nivel hipotalamic şi potenţare la nivel hipofizar a acţiunii CRF. În plus, ***Adrenalina*** poate intensifica răspunsul celulelor ţintă la CRF.

GH se află sub controlul dublu al GRH şi al Somatostatinei, iar ***PRL***, sub un control multifactorial (factori stimulatori şi inhibitori). Astfel, Dopamina este un PHI. De asemenea, se consideră că GABA şi Acetilcolina sunt PHI. Pe de altă parte, există un număr de factori eliberatori ai PRL: VIP, TRH, PTH, Angiotensina II.

În răspunsul la stres există o interacţiune complexă intrahipotalamică între peptide. CRF îşi intensifică propria sa eliberare printr-un circuit feed-back pozitiv, existând şi un alt circuit feed-back negativ al GRH şi Somatostatinei.

Majoritatea procedurilor imunizării (care folosesc tulpini bacteriene imunogene, omorâte prin diverse procedee) determină un răspuns stres-like din partea hipofizei. De aceea, în faza acută a inflamaţiei se descrie o stimulare a secreţiei de ACTH şi de GCS, conducând la imunosupresie. Acest fenomen este contrabalansat de efectele stimulatoare ale GH şi PRL, eliberate în cursul stresului. S-a demonstrat existenţa de receptori pentru GCS pe celulele SI, dar nu şi pentru GH şi PRL. Probabil, efectele lor sunt mediate în particular prin acţiunea pe celulele timice.

Activarea unităţii hipotalamo-hipofizare în timpul stresului este mediată prin căi multiple. Stresul poate fi indus prin stimuli emoţionali, dureroşi, prin leziuni tisulare. De exemplu, pirogenele exogene determină eliberarea de pirogene endogene (IL-1). IL-1 trebuie să ajungă în hipotalamus, pentru a induce febra şi a activa sistemul hipofizo-corticosuprarenalian. De asemenea, fracţia 5-timozina, produsă de timus, este capabilă să stimuleze eliberarea de ACTH.

Scanned with OKEN Scanner

1.2.2. Efectele ACTH , CRH şi β-endorfinei asupra activităţii celulelor NK [41, 80, 148, 211, 254]

Peptidele eliberate din hipofiză, precum şi CRF participă la controlul imunităţii. Demonstrarea prezenţei receptorilor specifici pentru hormonii adenohipofizari şi hipotalamici pe limfocite, precum şi producerea de către acestea a CRF sugerează rolul acestor neurohormoni ca agenţi imunomodulatori.

β-endorfina intensifică semnificativ activitatea celulelor NK prin intermediul receptorilor opioizi ai acestor celule. La concentraţii fiziologice şi suprafiziologice, β-endorfina este capabilă să atenueze efectul inhibitor al GCS asupra activităţii NK. Intensifică efectul de stimulare produs de IL-2 şi de IFMγ asupra activităţii celulelor NK.

ACTH prezintă un efect de stimulare a activităţii celulelor NK, "in vivo", în timp ce "in vitro", nu influenţează direct citotoxicitatea spontană a acestor celuile, ci doar pe cea stimulată de IL-2. Incubarea experimentală a celulelor mononucleare din sângele periferic cu ACTH nu produce o modificare apreciabilă a activităţii celulelor NK. În schimb, incubarea cu ACTH şi IL-2 sau IFNγ a acestor celule, conduce la un nivel semnificativ crescut al efectelor. ACTH incubat în acelaşi timp cu cortizolul şi celulele mononucleare din sângele periferic, conduce la scăderea inhibiţiei activităţii celulelor NK produsă de Cortizol. Spre deosebire de β-endorfină, ACTH influenţează, deci, activitatea celulelor NK prin mecanisme indirecte.

CRF reduce activitatea celulelor NK.

1.2.3. Cortizolul şi androgenii - produse finale ale axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene[30, 50, 80, 108, 148, 189, 192, 219]

Secreţia corticosuprarenaliană de Cortizol şi Dehidroepiandrosteron (DHEA) se află sub controlul ACTH care, la rândul său este reglat de CRF.

GCS se numără printre cei mai puternici agenţi antiinflamatori, antialergici şi imunosupresori. Ei acţionează prin mecanisme diferite în diferite etape ale răspunsului imun.

GCS inhibă cascada reacţiilor imune şi inflamatorii prin inhibarea proliferării induse de Ag/mitogen a limfocitelor, prin inhibarea proliferării celulelor prezentatoare de Ag şi prin inhibarea exprimării Ag şi a amplificării semnalului antigenic de către celulele accesorii.

O asemenea gamă variată de efecte imunosupresoare se exercită direct pe celulele imunocompetente şi indirect prin efectele asupra migrării şi eliberării mediatorilor inflamaţiei.

Scanned with OKEN Scanner

GCS inhibă producţia de IL-1, IL-2, precum şi sinteza şi exprimarea receptorilor săi, producţia de IFNγ, GM-CSF, IL-3, IL-6. GCS stimulează sinteza de lipocortine (în PMN) şi macrocortine (în macrofage), ambele inhibând Fosfolipaza A_2. Astfel, GCS inhibă producţia de PG şi TX, dar şi producţia de LT şi Epoxizi (Pe lângă efectul antiinflamator realizat prin inhibarea producţiei de PG, GCS înlătură efectele bronhoconstrictive din astmul bronşic şi prin blocarea producerii de LTB_4).

GCS determină creşterea producţiei de IL-4. De asemenea, s-a demonstrat sinergismul între GCS şi IL-4 asupra activării şi diferenţierii celulelor B în celulele producătoare IgE. GCS exercită un efect citolitic pe LyT imature (care includ totalitatea timocitelor) şi asupra unui număr de celule T tumorale, inducând programul denumit "cell death" sau "apoptosis" pentru celulele a căror proliferare este indusă de IL-2.

GCS joacă un rol important în alterarea arhitecturii timusului în timpul maturării sexuale. S-a demonstrat că GCS induc atrofia ariei corticale a timusului. Susceptibilitatea hormonală a acestui proces şi alterările dramatice ale arhitecturii şi funcţiei timusului legate de maturarea sexuală au determinat studii ale efectului asupra variaţiilor fiziologice şi farmacologice ale hormonilor steroizi sexuali. Datele experimentale au arătat că fluctuaţiile fiziologice ale hormonilor steroizi sexuali circulanţi în timpul ciclului estrogenic la şobolani induc importante modificări ale concentraţiilor genei GR-ARNm a glandei timice. Steroizii endogeni ai corticosuprarenalei realizează reglarea descendentă ("down-regulation") a transcripţiei GR-ARNm în interiorul timusului. Astfel, concentraţiile timice ale GR-ARNm se află sub controlul hormonilor gonadali şi ai hormonilor corticosuprarenalei.

Aceste date sugerează că există o influenţă reciprocă între GCS şi steroizii sexuali în reglarea funcţiilor imune dependente de timus. De fapt, impactul fondului de hormoni sexuali în răspunsul imun şi activitatea axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene sunt perfect ilustrate prin prezenţa dimorfismului sexual în cadrul axei şi al răspunsului imun.

Efectele GCS pe celulele SI sunt mediate prin receptori membranari. Există două tipuri de receptori, notate cu I şi II. Tipul I leagă Aldosteronul şi Corticosteronul cu aceeaşi afinitate. Tipul II (situs de referinţă al Dexametazonei) are o afinitate scăzută faţă de Corticosteron, comparativ cu tipul I. În creier şi hipofiza anterioară, una dintre multiplele acţiuni ale acestui receptor este implicată în reglarea feed-back a axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene în timpul răspunsului la stres.

Scanned with OKEN Scanner

Concentraţii mari de ARNm tip II au fost găsite în timus, splină, ficat, hipotalamus, hipofiză, cerebel, în timp ce în testicule şi paratiroide există concentraţii scăzute ale acestui tip.

GCS secretaţi în timpul stresului acţionează pe hipocampus, hipotalamus, hipofiză, pentru a inhiba secreţia de CRF şi ACTH şi pentru a termina răspunsul la stres.

DHEA în doze farmacologice, injectate subcutanat, determină creşterea rezistenţei imune la infecţii virale şi bacteriene. Poate proteja gazda împotriva infecţiei cu virus *Coxsackie B*, virus herpetic tip II, *Enterococcus faecalis*.

Creşterea rezistenţei la infecţie se realizează prin contracararea efectelor imunosupresoare ale GCS. DHEA stimulează proliferarea celulelor T şi producţia de IL-2. Ţinta primară a DHEA este sub populaţia LyTh-1 a populaţiei de celule CD4+, determinând creşterea producţiei de IL-2, care măreşte activitatea citotoxică şi reduce nivelurile de IL-4.

DHEA antagonizează efectele supresoare ale GCS asupra producţiei de IL-2, ceea ce conduce în final la creşterea rezistenţei la infecţii.

DHEA anulează efectul supresor al GCS asupra sintezei şi secreţiei de IFN, aceasta explicând efectele antivirale ale DHEA.

Efectele imunostimulatoare ale DHEA sunt evidente în cazul prezenţei infecţiei la gazdă. În absenţa stimulului infecţios efectele DHEA sunt nesemnificative. La pacienţii cu infecţii HIV, neoplazii, boli cronice inflamatorii sau de alte etiologii, concentraţia DHEA este scăzută, în timp ce concentraţia GCS este crescută. De asemenea, se înregistrează concentraţii scăzute ale DHEA în sifilisul congenital, filarioza cronică, arsuri, artrita reumatoidă, anorexia psihogenă, în cazul dietelor vegetariene, sindromul oboselii cronice.

DHEA şi metaboliţii săi îşi exercită, deci, efectele prin blocarea acţiunii GCS şi/sau prin modularea producţiei de citokine.

1.2.4. Dimorfismul sexual al răspunsului imun şi al axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene [148]

Răspunsul imun celular şi umoral este mai activ la femei decât la bărbaţi, cu excepţia perioadei de sarcină. Existenţa unui demorfism sexual în răspunsul imun, alterarea marcată a funcţiei imune indusă de gonadectomie, precum şi alterările imunitare din sarcină, susţin teoretic ipoteza că steroizii gonadali intervin în reglarea funcţiilor SI.

Mai mult, se constată la femei variaţii mai puternice ale răspunsului imun al celulelor T şi B, incluzând: niveluri mai mari de Ig, creşterea producţiei de anticorpi după imunizare, scăderea sensibilităţii la diverse

Scanned with OKEN Scanner

infecţii şi diferenţe în rejetarea de grefă. În particular, estrogenii au efect stimulator asupra diferenţierii celulelor B şi suprasor asupra activităţii celulelor reglatoare ale SI.

Beneficiul dimorfismului imunologic poate fi parţial legat de capacitatea femeilor de a rezista la stresul reproducerii. Hormonii sexuali sunt principalii factori ai dezvoltării, reglării şi menţinerii dimorfismului, deşi intervin şi alţi hormoni, ca: GH, PRL, GCS, precum şi o serie de neuromediatori clasici.

Se pare că în cursul maturării efectorilor limfocitari, tipurile de hormoni sexuali şi concentraţia lor joacă un rol cheie. Hormonii sexuali au un rol important în controlul răspunsului la stres prin imunomodulare. Estrogenii inhibă producţia de IL-6 în celulele stimulate de IL-1. IL-6 produce creşterea nivelurilor cortizolului prin activarea axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene. Deci, statusul estrogenic poate influenţa interacţiunile dintre GCS şi citokine. Astfel, gradul de sensibilitate la infecţii şi severitatea bolilor inflamatorii, ca răspuns la factorii proinflamatori, depind de influenţa steroizilor sexuali.

Dimorfismul sexual este descris şi în cazul axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene. Niveluri crescute de corticosteroni, precum şi variaţii mari ale corticosteronului plasmatic au fost găsite la femei în timpul zilei şi ca răspuns la stres.

Prezenţa receptorilor pentru hormonii sexuali la nivelul celulelor din timus sugerează un mecanism direct de acţiune al acestora asupra timusului.

1.2.5. Circuitul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenalian-SI [219]

Circuitul de feed-back negativ între SNC şi SI (axa hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană) este o componentă majoră a "dialogului" între neuroni şi celulele SI.

Activarea SI de către Ag/mitogene determină eliberarea de produse imune solubile (IL-1, IL-2, IL-6, TNF, PAF), care acţionează la diferite niveluri ale axei creier-hipofiză-SI, ca semnale ale ramurii aferente a răspunsului imun [148, 189]. Produsele eliberate pot activa şi un mecanism reflex simpatic, care contribuie la reglarea dinamică a răspunsului imun.

Activarea axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene de către citokine determină secreţia Corticosteronului din suprarenale, ceea ce reprezintă ramul aferent al răspunsului imun. De exemplu, IL-6 este implicată ca parte a răspunsului gazdei, care conduce la creşterea nivelurilor GCS în plasmă. Creşterea nivelurilor plasmatice ale ACTH şi GCS furnizează apoi un mecanism prin care imunosupresia rezultată serveşte la controlul şi limitarea reactivităţii imunitare la răspunsul la stimuli

Scanned with OKEN Scanner

proinflamatori şi Ag. CRF este un mediator al activării axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene de către IL-1.

Pentru a sublinia complexitatea interacţiunilor steroizi-SI, citokinele şi GCS acţionează sinergic în reglarea anumitor proteine din faza acută inflamatorie. Astfel, GCS potenţează capacitatea IL-6 de a stimula producţia de proteine în faza acută. Absenţa sau deficitul circuitului de feed-back negativ favorizează dezvoltarea bolilor inflamatorii.

1.2.6. Circuitul feed-back de imunoreglare al IL-1 şi GCS [148, 189, 219]

Printre sistemele homeostatice din organism, SI are o importanţă specială în refacerea balanţei fiziologice perturbate de stimuli non - self şi de componente self modificate.

Complexitatea sa, dinamica şi nevoia de proliferare a celulelor lui componente, pentru a rezulta un răspuns adecvat, necesită mecanisme precise de control. De fapt, insuficienţa în reglarea SI conduce la o serie de boli. Sunt cunoscute deja un număr de mecanisme reglatorii intrinseci, care se bazează pe elemente ale SI. Există date care sugerează existenţa de mecanisme de control neuroendocrine. Pentru ca o astfel de reglare extrinsecă să funcţioneze, există o condiţie esenţială cu privire la SI: furnizarea de mesaje de către celulele SI, capabile să informeze structurile neuroendocrine asupra stării lui funcţionale. Aceste structuri ar trebui să răspundă la rândul lor prin emiterea de semnale proprii reprezentate de hormoni neurotransmiţători, neuropeptide, pentru a interveni în funcţionarea celulelor SI.

A fost descris un factor derivat din limfocite (***GIF***), care se pare că îndeplineşte cerinţele unui semnal aferent. Acest factor, care acţionează prin intermediul axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene, produce creşterea concentraţiei Corticosteronului în sânge la nivelurile definite ca fiind imunosupresoare.

Modificări endocrine asemănătoare pot fi determinate şi de IL-1. IL-1 este mediatorul cheie al răspunsului imunitar al gazdei. Deci, este important de ştiut dacă IL-1, molecula cheie în lanţul imunologic şi în alte evenimente, este capabilă să inducă, "in vivo" modificări ale GCS. Creşteri ale nivelurilor acestor hormoni ar reprezenta un control feed-back asupra producţiei de IL-1. S-a constatat, experimental, pe loturi de şoareci, care au fost injectaţi cu doze progresive de IL-1, că aceasta determină creşterea nivelurilor de ACTH şi GCS, proporţional cu doza administrată.

Alte citokine, ca IL-2, IFN, TNF, nu determină răspunsuri din partea ACTH şi GCS. Deşi, TNF poate stimula producerea "in vivo" de IL-1, nu

Scanned with OKEN Scanner

poate induce direct răspunsul endocrin solicitat de aceasta. Este posibil ca formarea excesivă de IL-1 să determine procese patologice. De aceea, este foarte important pentru gazdă să se prevină producţia exagerată, nedorită, de IL-1, sub acţiunea stimulilor exogeni.

IL-1, prin creşterea nivelurilor GCS, se pare că-şi "solicită" singură reglarea feed-back. Creşterea GCS mediată imunologic face parte din răspunsul normal al organismului gazdă la stimulii antigenici din mediu. Acest răspuns reflectă existenţa unui circuit feed-back, implicând pe de o parte, produse ale celulelor imunocompetente (cum ar fi IL-1, GIF) şi, pe de altă parte, axa hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană.

Pătrunderea unui Ag determină stimularea axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene şi, ca urmare, creşterea GCS. În consecinţă, vor fi afectate funcţiile celulelor imune şi producţia de IL-1, IL-2, IFN şi alte citokine. Un astfel de circuit imunoreglator asociat GCS exercită o continuă supraveghere asupra densităţii şi activităţii celulelor imune. Trebuie să se ia în considerare faptul că GCS au efecte imunosupresoare. Suprasolicitarea axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene va conduce în final la eliberarea masivă şi susţinută de mesageri imuni, care pot contribui la instalarea unor stări patologice, cum ar fi, de exemplu, aşa-numitele infecţii "oportuniste".

1.2.7. Axa limfoid-corticosuprarenaliană. Secreţia hormonală a limfocitelor [148, 189]

O dovadă în plus a relaţiilor imuno-endocrine o constituie existenţa unei axe limfoid-corticosuprarenaliene. Această axă a fost pusă în evidenţă prin infecţia virală produsă la şoareci hipofizectomizaţi. S-a constatat că nivelurile de Corticosteron erau crescute, similare celor ale unor şoareci hipofizectomizaţi care au primit ACTH exogen. De aici, s-a sugerat ipoteza că limfocitele activate pot secreta ACTH, dar şi β-endorfine. În timpul infecţiei virale, limfocitele activate au eliberat ACTH, care, prin intermediul axei limfoid-corticosuprarenaliene, a determinat eliberarea în plasmă a Corticosteronului.

Pe de altă parte, secreţia hormonală a limfocitelor este dovedită teoretic şi de descoperirea de receptori specifici membranari pentru ACTH şi β-endorfină pe limfocite.

Celulele limfocitare activate de Ag pot secreta o mare varietate de citokine, care sunt molecule importante ale termoreglării. Multe dintre ele (IL-1, IL-2, IFNα etc.) modulează activitatea axei neuroendocrine.

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitele secretă şi hormoni clasici hipofizari (ACTH, GH, PRL), Oxitocină, precum şi neuromediatori clasici (β-endorfine, enkefaline, VIP).

1.2.8. Corticostatinele (Corticostatins - Defensis): peptide cu proprietăţi antimicrobiene şi de antagonizare a efectelor ACTH [148]

CS sunt o familie de peptide care contribuie la apărarea gazdei şi modularea funcţiei unităţii hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene.

Sunt peptide cationice care conţin 29-35 aminoacizi, incluzând de 6 ori cisteina. Ele rezultă printr-un proces de proteoliză, dintr-un precursor care este alcătuit din 93-95 aminoacizi. CS au fost izolate din ţesuturi şi celule de la diferite specii, pentru prima dată din fagocite de tipul neutrofilelor şi al macrofagelor. Ele constituie mai mult de 5 % din totalul proteinelor celulare ale neutrofilelor umane şi de iepure.

Termenul "*defensis*" se referă la proprietatea de a intensifica omorârea microorganismelor intracelulare.

Termenul "*corticostatins*" se referă la proprietatea de a inhiba "in vitro" steroideogeneza adrenocorticală, ACTH dependentă, prin competiţia pentru situsurile specifice de legare şi/sau acţiunea ACTH pe celula ţintă.

Au fost identificate 4 CS umane: HNP-1, HNP-2, HNP-3 şi HNP-4. Numai HNP-4 prezintă o activitate corticostatică semnificativă.

Mecanismul general de acţiune al acestor peptide implică iniţial interacţiuni electrostatice cu moleculele celulare de suprafaţă, încărcate electronegativ, urmate de inserţia în membrana celulară, rezultând modificarea permeabilităţii membranare. Intensificarea fluxului ionic transmembranar este posibil să se realizeze prin canale ionice voltaj dependente.

CS prezintă, de asemenea, activitate citotoxică, dependentă de concentraţie, pentru diverse celule ţintă, inclusiv, limfocite şi linii celulare tumorale rezistente la activitatea citolitică a celulelor NK.

Izolarea CS din fagocite şi celulele imunoreglatoare, ca şi proprietăţile lor corticostatice, realizează pentru aceste peptide semnificaţie funcţională în reţeaua comunicativă dintre funcţia axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene şi SI.

HNP-1 şi HNP-4 reduc într-o oarecare măsură citotoxicitatea spontană a celulelor NK şi, mult mai puternic, citotoxicitatea indusă de limfocite. În plus, ele potenţează semnificativ inhibiţia indusă de Cortizol. Efectul pe viabilitatea celulară este neglijabil.

Scanned with OKEN Scanner

În general, HNP-1 este mai activă decât HNP-4. Celulele NK umane produc o cantitate apreciabilă de HNP-1.

Multe celule granulare din sângele periferic pot produce şi elibera în mediul extracelular, o proteină granulară potenţial autoreglatoare şi citotoxică, această observaţie fiind un argument în plus pentru originea mieloidă a celulelor NK.

1.2.9. Glanda pineală şi imunitatea [148]

Glanda pineală funcţionează ca un transductor neuroendocrin, prin transformarea majorităţii informaţiilor din mediu în semnale care modulează majoritatea mecanismelor neuroendocrine. Această sarcină remarcabilă pare să fie realizată de sinteza circadiană şi de eliberarea de ***Melatonină*** (N - acetil-5-metoxi-triptamina), cel mai studiat şi cunoscut neurohormon epifizar. Melatonina este sintetizată şi eliberată prin activarea receptorilor epifizari β-adrenergici, la om şi la majoritatea vertebratelor, în timpul nopţii şi menţine un ritm circadian regulat. La oameni, alterarea ritmului circadian este asociată cu tulburări ale somnului, anxietate, tulburări afective şi psihosomatice.

Glanda pineală exercită şi o acţiune imunomodulatoare prin secreţia circadiană de Melatonină. Melatonina intensifică răspunsul celulelor NK la citokine. Inhibiţia epifizei afectează producţia de anticorpi şi reacţiile de răspuns ale limfocitelor. Melatonina are acţiune antagonistă faţă de imunosupresia indusă de GCS. Melatonina influenţează răspunsul imun prin căi opioide. Nivelurile scăzute de Melatonină au fost asociate cu tulburări psihice, afective şi cu o creştere a incidenţei infecţiilor, a autoimunităţii şi a neoplaziilor. În cursul stresului se eliberează atât GCS, cât şi peptide opioide. GCS inhibă sinteza de melatonină, în timp ce peptidele opioide o stimulează. S-a demonstrat că datorită stresului zilnic, se intensifică secreţia nocturnă de melatonină. Există o conexiune intimă între glanda pineală şi mecanismele neuroendocrine care mediază efectele stresului. Glanda pineală se comportă ca un veritabil "tampon", prin antagonizarea efectelor adverse imunologice ale stresului, prin eliberarea circadiană de melatonină.

Scanned with OKEN Scanner

1.2.10. Modularea funcției limfocitelor de către neuropeptide (substanța P, Somatostatina și VIP)

SP, SOM, VIP, eliberate în țesuturi predominant inervate de fibre ale sistemului nervos periferic, modulează funcțiile limfocitelor umane [41].

SOM inhibă proliferarea LyT, indusă de PHA, inhibă proliferarea limfocitelor splenice și din plăcile Peyer, precum și sinteza de IgA (dar nu și sinteza de IgG și IgM).

VIP inhibă proliferarea limfocitelor splenice și din plăcile Peyer și influențează numai producția de Ig din plăcile Peyer, unde stimulează producția de IgM și o inhibă pe cea a IgA. Mecanismul molecular de acțiune se realizează pe calea adenilatciclazei. Receptorii VIP pe limfocite nu mediază numai activități celulare, dar influențează și distribuția de LyT în țesutul limfoid asociat intestinului (GALT).

SP are acțiune stimulatoare: induce activitatea citotoxică a PMN, stimulează eliberarea citokinelor inflamatorii de către monocite, stimulează proliferarea LyT, crește expresia receptorilor pentru IL-2 pe limfocitele T activate, stimulează producția IgA, întâi din splină și apoi din plăcile Peyer, stimulează eliberarea histaminei din mastocite [41, 189, 225]. Mecanismul molecular al acțiunii SP constă în stimularea încorporării fosforului în fosfolipide, prin activarea căii fosfatidilinozitolului și creșterea concentrației Ca^{2+} citosolic.

Având în vedere inervația adrenergică și peptidergică a țesutului limfoid, precum și existența pe limfocide a receptorilor pentru SP, SOM, VIP, este posibilă o influență a sistemului nervos periferic asupra imunității prin secreția locală de neurotransmițător.

1.2.11. Mielopeptidele și SI

Au fost descrise un grup de peptide reglatorii sintetizate de celulele din măduva osoasă, denumite mielopeptide. Acestea au proprietăți imunomodulatorii și opioid-like.

Mielopeptidele participă la transmiterea semnalelor biologice de la SI la sistemul nervos, fiind, astfel, mediatorii interacțiunii dintre cele două sisteme. Celulele din măduva osoasă produc un mediator solubil care intensifică sinteza anticorpilor de două sau de trei ori, față de producția maximă din cadrul răspunsului imun.

Investigațiile asupra proprietăților fizico-chimice și biologice ale acestui mediator au demonstrat heterogenitatea naturii și funcționalității acestor peptide. Mielopeptidele sunt produse în absența stimulării de către antigene sau mitogene. Se pare că sinteza de mielopeptide are loc și în monocite. Ele reglează proliferarea și diferențierea LyT citotoxice,

Scanned with OKEN Scanner

intensifică producţia de anticorpi, influenţează celulele stem, interacţionează competitiv cu LyT supresoare.

De asemenea, mielopeptidele prezintă şi efect analgezic, concomitent cu cel de reglare a răspunsului imun. Efectul analgezic a fost observat pe organismul uman sănătos, după administrarea subcutanată de mielopeptide. Deci, mielopeptidele sunt substanţe opioid-like. În măduva osoasă s-a evidenţiat un precursor opioid care nu circulă în sânge: POMC. Aceasta presupune că în măduva osoasă are loc sinteza de novo a peptidelor opioide.

Alături de mielopeptide, în transmiterea informaţiilor de la SI la sistemul nervos, intervin: hormonii timici, IFN şi IL-1.

1.2.12. Rolul sistemului enkefalin - endorfinic în neuroimunomodulare

Enkefalinele şi endorfinele sunt eliberate mai ales, după stimuli exogeni, ca, stresul, şocul. Principala acţiune a enkefalinelor se exercită la nivelul celulelor sistemului nervos, care prezintă receptorii opioizi. Ele sunt distruse de enkefalinaze.

Peptidele endogene cu structura cea mai simplă având proprietăţi opioide sunt: ***Metionin-enkefalina (Met-enk) şi Leucin-enkefalina (Leu-enk).***

Met-enk influenţează şi variaţi parametri ai SI [12, 148, 174, 211]. Aceste efecte sunt mediate prin intermediul receptorilor opioizi ai celulelor SI. Astfel, receptorii opioizi μ se găsesc pe limfocitele B, celulele mononucleare din sângele periferic şi timocite; receptorii opioizi δ se găsesc pe LyT, LyB, macrofage, timocite; receptorii opioizi kappa (k) se găsesc pe splenocite, LyT, LyB, macrofage, timocite.

Opioidele endogene sunt recunoscute de LyT şi LyB prin receptori opioizi, dar şi prin receptori neopioizi, conducând la legături funcţionale între LyT şi LyB. Acest fenomen poate fi important în răspunsul imun, dată fiind semnificaţia cooperării dintre LyT şi LyB.

Enkefalinele intensifică activitatea celulelor NK, atât printr-o cale specific opioidă, cât şi printr-un mecanism indirect (IL-2, IFN). Limfocitele T produc Met-enk.

Met-enk, "in vitro", intensifică exprimarea fenotipului Leu-11 pe celulele mononucleare, iar acest marker identifică celulele cu activitate NK. Met-enk este implicată, de asemenea, în exprimarea markerilor de pe suprafaţa limfocitelor.

Reglarea funcţiilor SI prin intermediul opiopeptidelor endogene se caracterizează prin efectele imunomodulatorii duale ale acestora efectele

Scanned with OKEN Scanner

duale ale opiopeptidelor asupra SI interesează: proliferarea şi chemotaxia celulelor imunocompetente, activitatea celulelor NK şi secreţia de citokine şi Ac de către celulele SI [211].

Efectele imunomodulatorii (pozitive şi negative) asupra **proliferării celulare** sunt dependente de doză şi sunt în general mediate de receptorii opioizi:

a. modulare pozitivă: - stimularea blastogenezei indusă de PHA, precum şi creşterea activităţii NK în prezenţa ambelor enkefaline;
- stimularea de către β-endorfină a răspunsului proliferativ PHA- şi ConA-indus al LyT din sângele periferic uman, efect inhibat de Naloxon.

b. modulare negativă: - β-endorfina şi dipeptidul C-terminal al β-endorfinei inhibă proliferarea indusă de mitogeni a limfocitelor periferice, efect neantagonizat de Naloxon (se presupune că β-endorfina, inhibând influxul de Ca^{2+}, ar împiedica formarea microtubulilor, blocând progresia celulară din faza G0 în cursul ciclului celular şi, deci, proliferarea celulară).

Efectele duale se manifestă asupra **chemotaxiei** astfel:

- β-endorfina şi met-enk stimulează chemotaxia mononuclearelor din sângele periferic, efect antagonizat de Naloxon;
- β-endorfina şi ambele enkefaline, ca, de altfel, şi agoniştii μ şi δ, determină creşterea mobilităţii LyT, efect care este inhibat de Naloxon;
- β-endorfina stimulează chemotaxia neutrofilului acţionând pe receptorii opioizi ai PMN.

Ambele efecte (pozitiv şi negativ) ale peptidelor opioide endogene asupra **chemotaxiei** diferitelor populaţii celulare constituie rezultatul acţiunii pe receptorii opioizi ai celulelor SI.

Peptidele opioide pot stimula sau inhiba **activitatea celulelor NK.**

Dintre ***efectele inhibitorii*** se pot menţiona:

- β-endorfinele au efect inhibitor mediat prin receptorii opioizi ai celulelor NK;
- stresul acut inhibă activitatea NK (efect mediat de receptorii opioizi ai celulelor NK).

Scanned with OKEN Scanner

Dintre ***efectele stimulatorii*** se poate menţiona: β-endorfina şi met-enkefalina stimulează activitatea celulelor NK;

Aceste efecte duale se datorează – se pare – unei relaţii polimodale doză-efect, cu participarea unor receptori diferiţi, în funcţie de doză.

Au fost descrise şi efecte asupra **secreţiei de citokine** de către celulele SI [211].

Astfel, β-endorfina şi met-enkefalina cresc producţia de IFNγ de către celulele mononucleare ConA-stimulate, iar β-endorfina, γ-endorfina şi leu- şi met-enkefalina cresc producţia de IL-2 de către celulele limfoide activate de IL-1. Există o dependenţă bimodală a secreţiei de IL-2 faţă de concentraţia acestor peptide.

Met-enkefalina creşte şi producţia de IL-1 şi IL-4 şi expresia pe suprafaţa celulelor SI a receptorilor pentru IL-2 având, prin aceasta, efecte antivirale.

Secreţia de anticorpi este inhibată de α-endorfină şi met-enkefalină prin cuplarea capătului N-terminal la receptori opioizi [211].

RI primar este inhibat de β-endorfină, în timp ce RI secundar (secreţia de IgG) este semnificativ crescut prin intermediul acestor peptide.

În inhibarea secreţiei de Ac a fost observată implicarea prevalentă a receptorilor k prezenţi pe membrana LyT şi a macrofagelor.

Dinorfina intensifică reacţia LyT la stimularea cu PHA.

Met-enk induce producţia de IL-2 şi creşte răspunsul limfocitelor la mitogene, în caz de imunosupresie. În plus, în cazul pacienţilor cu neoplazii sau cu SIDA, care primesc Met-enk, s-au observat efecte imunostimulatoare sugerând că Met-enk poate fi considerată ca un modificator al răspunsului biologic şi, ca atare, poate avea unele valori terapeutice la pacienţii cu imunodeficienţă primară sau secundară [224].

Met-enk prezintă puternice efecte antiretrovirale în asociere cu Azidotimidina (AZT), reducând replicarea FLV, în proporţie de 67 %, comparativ cu acest efect obţinut prin administrarea de AZT, fără met-enk (47 %). Aceste efecte ale met-enk se explică prin stimularea producţiei unor citokine care reduc replicarea FLV: IL-1, IL-2, IL-4 şi IFNγ. De asemenea, met-enk creşte expresia receptorilor pentru IL-2 [Marrotti T. şi colab., 1994; Singh S. şi colab., 1984; Wybran J. şi colab., 1987 ; citaţi bibl. 224]. În realizarea acestor efecte sunt implicate două mecanisme moleculare de acţiune:

a. producţia de citokine de către limfocitele T_{h-1};

b. inducerea producţiei de IFN, care inhibă direct replicarea virală.

Scanned with OKEN Scanner

Administrarea de met-enk, fără asociere cu AZT, nu inhibă, însă, semnificativ replicarea FLV [224].

După cum s-a menţionat deja, enkefalinele prezintă efecte dependente de concentraţie asupra SI: o doză mare suprimă, în timp ce o doză mică intensifică reacţiile imune. Injectarea enkefalinelor intraventricular determină efecte imunosupresoare foarte puternice, enkefalinele acţionând la nivelul creierului prin intermediul receptorilor lor specifici, dar, posibil, şi pe alte căi nespecifice. Acest lucru sugerează un mecanism central de imunomodulare (fapt susţinut şi de posibilitatea influenţării răspunsului imun prin activarea sistemelor dopaminergic şi serotoninergic), dar nu exclude şi un mecanism periferic.

Met-enk şi γ-endorfina sunt puternici agenţi anti-anafilactici. Met-enk poate fi folosită pentru prevenirea anafilaxiei.

Enkefalinele influenţează mai degrabă ramura eferentă, decât pe cea aferentă a circuitului imun.

Met-enk şi Leu-enk sunt implicate în degranularea mastocitară şi eliberarea de Histamină, au efecte asupra formei şi motilităţii PMN. Met-enk, alături de Somatostatină şi Angiotensina II, stimulează fagocitoza intracelulară şi citotoxicitatea extracelulară realizată de macrofagele peritoneale. La concentraţii mari, aceste peptide diminuă funcţiile macrofagelor, prin supresia generării de radicali O_2-, H_2O_2.

Stimularea funcţiilor macrofagelor de către Met-enk se face prin intermediul receptorilor opioizi.

Met-enk, precum şi analogii săi de sinteză (mult mai stabili decât opiopeptidul endogen), respectiv, Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-Met-NHC_3H_7-iso(1) şi Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-Gly-NHC_3H_7-iso(2), stimulează maturarea limfocitelor T (Plotnikoff N.P. şi colab., 1985) şi cresc citotoxicitatea celulelor NK. Efectul celor doi compuşi de sinteză asupra celulelor NK se realizează atât la voluntari sănătoşi, cât şi la subiecţi cu neoplazii (Plotnikoff N.P. şi colab., 1985).

Analogul 2 este de 2-3 ori mai activ decât met-enk în stimularea producţiei de M-CSF [Singh P.P. şi colab., 1991 ; citaţi bibl. 12] şi are un puternic efect analgezic [12].

Met-enk şi Leu-enk modulează funcţia limfocitară mai degrabă prin interacţiunea cu alte substanţe biologic active (hormoni, neurotransmiţători, citokine), decât prin modificări ale structurii celulare a ţesutului limfoid.

β-endorfina, secretată de hipofiză după perceperea de către SNC a unor stimuli psihosociali, poate avea un efect modulator asupra activităţii celulelor imune. S-a demonstrat că β-endorfina poate influenţa proliferarea

Scanned with OKEN Scanner

limfocitelor, atât în sens pozitiv, cât şi în sens negativ, dependent de concentraţie şi de durata expunerii organismului gazdă la stimulii exogeni. În răspunsul la β-endorfină prin proliferarea limfocitelor sunt implicaţi factori genetici şi factori care reglează expresia receptorilor pentru β-endorfine.

Experimental s-a demonstrat că administrarea de β-endorfină inhibă activitatea nucleului arcuat din hipotalamus, inhibă activitatea fagocitară a neutrofilelor, determină modificări în reorganizarea periodică a funcţiei LyT, în unele condiţii fiziologice (de exemplu, în timpul ovulaţiei), producând şi modificări procentuale ale subseturilor de LyT. Dependent de concentraţie, β-endorfina determină activarea /supresia sintezei de anticorpi şi activarea/supresia macrofagelor.

Dinorfina intensifică reacţia LyT la stimulii cu PHA.

γ-endorfina (β-endorfina-1-17) poate lega preferenţial anumite Ag HLA de clasă I(HLA - A_{10}, HLA-A_{11}, HLA-B_{13}, HLA-B_{15}, HLA-B_{22}, HLA-C_6). Aceasta indică un mecanism prin care Ag MHC interferă cu interacţiunea dintre ligand şi receptori în membrana celulară.

La nivel **celular,** o parte din efectele duale descrise mai sus pot fi explicate prin prezenţa de multipli receptori la nivelul membranelor celulelor SI [211]. Astfel, au fost descrişi:

- receptori pentru prolactină, insulină, ACTH, VIP, NGF;
- receptori cu afinitate crescută pentru substanţa P pe suprafaţa limfocitelor şi a macrofagelor;
- receptori nicotinici şi muscarinici;
- receptori $5HT_2$;
- receptori μ pe suprafaţa LyB, pe celulele liniei monocitare din sângele periferic, pe timocite;
- receptori δ pe LyT, LyB, macrofage, timocite;
- receptori k pe splenocite, LyT, LyB, macrofage, timocite.

La nivel molecular, receptorii opioizi odată activaţi pot să acţioneze fie prin proteina Gs, fie prin proteina Gi, astfel că efectul poate fi pozitiv sau negativ. Pe aceeaşi celulă imunocompetentă pot fi prezente mai multe clase de receptori opioizi. Nu se ştie dacă efectul cuplării la aceşti receptori este aditiv, independent sau antagonic, dar coprezenţa a diferite tipuri de receptori cu afinităţi diferite pentru opiopeptide diferite, pe aceeaşi celulă a SI ar putea permite măcar în parte, explicarea efectelor duale asupra funcţiilor imune.

Studii recente asupra caracteristicilor farmacologice ale receptorilor k, μ, δ au demonstrat că cele două enkefaline şi β-endorfina sunt legate cu

Scanned with OKEN Scanner

afinitate înaltă şi comparabilă de către receptorii μ şi δ, în timp ce afinitatea lor pentru receptorii k este considerabil mai mică.

Receptorii opioizi pentru met-enkefalină implicaţi în stimularea proliferării LyT periferice umane sunt de tip δ, în timp ce agoniştii şi antagoniştii μ specifici sunt inactivi pe aceste celule.

Agoniştii k selectivi, precum şi Morfina şi alţi agonişti μ selectivi scad producţia de Ac, ducând la concluzia că receptorii opioizi implicaţi în modularea producţiei de Ac aparţin claselor k şi μ.

Au fost descrişi şi "receptori neopioizi" pe suprafaţa celulelor SI la care se cuplează β-endorfina prin capătul C-terminal, reglând proliferarea indusă de mitogen a limfocitelor splenice. Cu toate că aceşti receptori nu au fost caracterizaţi încă din punct de vedere al structurii moleculare, este posibilă existenţa mai multor clase de receptori care să medieze efecte farmacologice prin mecanisme neopioide. Conform acestui model, producţia de citokine poate fi crescută prin legarea peptidului opioid C-terminal cu afinitate înaltă la receptori neopioizi, în timp ce capătul N-terminal, legând cu afinitate mai mică receptori opioizi, inhibă eliberarea de citokine.

Mai mult, numărul receptorilor de suprafaţă este dependent de stimularea celulelor SI cu antigene sau mitogeni, aceasta ducând şi la exprimarea de receptori cu afinitate crescută pentru opiopeptide. Pe de altă parte, activarea SI creşte proteoliza prin enzimele secretate sau expuse pe membranele celulelor imunocompetente.

La nivel **central** au fost descrise acţiuni ale multor substanţe biologic active printre care şi peptidele opioide. Astfel, timozina modifică activitatea electrică a hipotalamusului, în special a neuronilor din hipotalamusul medio-bazal. Această constatare asupra controlului neural în răspunsul imun sugerează că feed-back-ul imunoendocrin al creierului implică interacţiuni ale anumitor transmiţători care modifică activitatea electrică nervoasă. Unul dintre cei mai importanţi mediatori ai acestui mecanism este IL-1.

Experimental s-a observat că administrarea de β-endorfină inhibă nucleul arcuat din hipotalamus şi determină modificări în reorganizarea periodică a funcţiei celulelor T în unele condiţii fiziologice (de exemplu, ovulaţia), determinând şi modificări procentuale ale subseturilor de LyT [211].

Scanned with OKEN Scanner

1.2.13. Coordonarea de către SNC a neuro-endocrino-imunomodulării

Regiunile SNC implicate în reglarea răspunsului imun sunt următoarele [159]:

a. celulele catecolaminergice din ariile A1-A7 şi porţiunea laterală a formaţiei reticulate;
b. celulele serotoninergice din ariile B6-B8 şi zona rafeului din formaţia reticulată;
c. nucleul parabrahial - o structură care participă la transmiterea aferentă a simţului gustului şi a sensibilităţii viscerale, fiind implicată şi în comportamentul emoţional şi în reglarea somnului;
d. amigdala, în special subnucleii centrali şi basomediali, sistemul limbic-care reglează funcţiile vegetative şi emoţiile;
e. septum, o porţiune medială a telencefalului, care este conectată cu sistemele limbic şi olfactiv;
f. hipocampul (CA 1-3);
g. cortexul cingulat medial frontal, în special ariile 1 şi 2.

Există ***trei circuite neuronale*** implicate în realizarea răspunsului imun.

Un circuit este reprezentat de formaţia reticulată şi celulele sale catecolaminergice din ariile A1-7, nucleul parabrahial şi nucleii centrali ai amigdalei. Aceste structuri sunt conectate mai mult cu căile neuronale descendente. O leziune în acest circuit produce scăderea răspunsului imun.

Al doilea circuit reprezintă formaţia reticulată a rafeului cu celulele sale serotoninergice din ariile B6-8, hipotalamusul şi nucleul basomedial al amigdalei. Aceste structuri sunt conectate mai mult cu căile neuronale ascendente. Leziunile în acest circuit produc creşterea intensităţii răspunsului imun.

Al treilea circuit (care este cel mai mare) este reprezentat de structurile limbice telencefalice, cum ar fi cortexul medial frontal, hipocampus şi septum. Leziunile în aceste structuri interconectate sunt mai dificil de interpretat. Leziunile din septum, porţiunea medială a telencefalului, care e conectată cu sistemele limbic şi olfactiv, diminuă răspunsul imun, dacă leziunile sunt localizate în porţiunile dorsală şi posterioară din septum lateral - porţiunea intermediară şi dorsală a nucleului septal lateral şi nucleul septo-hipocampal. Leziunile în părţile anterioară şi ventrală a nucleului septal medial - nucleul septal medial, nucleul bandei diagonale a lui Broca, cresc răspunsul imun. Un număr de alte leziuni, cum ar fi acelea din partea ventrală a nucleului septal lateral, nucleul septohipotalamic, nu influenţează răspunsul imun.

Scanned with OKEN Scanner

Leziuni minore experimentale electrolitice ale părții rostrale din ariile CA1 şi CA2 ale hipocampusului scad răspunsul imun. Leziuni în porțiunea posterioară a acestor arii (CA1 şi CA2) determină, totuşi, efecte diferite la nivelul splinei şi al timusului. În timp ce răspunsul celulelor splenice scade în proporție de peste 80 %, cel al timocitelor creşte cu peste 150 %.

Leziuni mici în aria CA3 pot să modifice răspunsul splenocitelor în proporție de peste 160 %, în timp ce răspunsul timocitelor nu este influențat.

Ariile SNC descrise mai sus sunt influențate specific prin activarea specifică/deprimarea specifică a sistemului imunitar. Pe de altă parte, stimularea, respectiv, inhibarea ariilor respective ale SNC determină modificări ale procesului imun, în special ale răspunsurilor imune mediate celular.

2. IMUNOMODULAREA PROVOCATĂ

Imunomodulatorii sunt medicamente de origine naturală sau de sinteză, care influențează SI astfel încât să se obțină un beneficiu terapeutic [233].

2.1. IMUNOMODULAREA PROVOCATĂ SELECTIVĂ

2.1.1. Imunosupresia reprezintă reprimarea artificială a reacției imunitare a organismunlui. Aceasta se poate realiza:

- în mod specific, prin administrarea unui anumit Ac;
- nespecific, prin folosirea agenților imunosupresivi.

2.1.1.1. Imunosupresia specifică [4, 44, 122, 123, 235]

Anticorpii folosiți ca agenți imunosupresivi sunt:

- anticorpii policlonali antilimfocitari: ATS, ATG, ALS, HLG sau ALG;
- anticorpii monoclonali antilimfocitari pentru diferite subseturi de LyT;
- globulina imună sau Rh(D) Immune Globulin;
- plasmafereza.

• ***ANTICORPII POLICLONALI*** [235, 252] sunt în general preparați prin imunizarea animalelor cu limfocite umane. Dacă sunt utilizate celulele din timus, preparatul este denumit ATS (SAT). Acesta este în continuare fracționat pentru a obține porțiunea globulinică, preparatul fiind denumit ATG (GAT). Alte categorii de Ac sunt preparate din limfocitele ductului

Scanned with OKEN Scanner

toracic, celulele splenice sau limfocitele sângelui periferic obținute prin leucoforeză. Aceste ultime preparate sunt denumite ALS (SAL) sau, respectiv, ALG (GAL.

Anticorpii policlonali antilimfocitari sunt agenți imunosupresivi eficienți în studiile pe animale de laborator, unde efectul lor primar constă în "lezarea" răspunsului imun mediat celular, cu specificitate pentru LyT. Totuşi, mecanismele moleculare responsabile pentru acțiunile lor imunosupresive nu sunt cunoscute în întregime (Alan Winkelstein, 1994, citat bibl. 235). Aceste preparate produc limfopenia "in vivo". În clinică, ele sunt utilizate în special pentru a trata reacțiile de respingere ale grefei de organ. Mai recent, anticorpii policlonali antilimfocitari au fost utilizați în tratamentul pacienților cu reacții severe de GVH, precum şi pentru promovarea remisiunilor în unele cazuri de anemie aplastică.

ATG inhibă LyT şi produce citoliza LyT (care scad rapid, sub 10 %, față de nivelul de bază) cu scăderea consecutivă a limfokinelor imunosupresoare. Eficiența terapeutică este de 50 %. Efectul se instalează progresiv. Deşi normalizarea hemogramei este rară, tabloul clinic se ameliorează (scade incidența infecțiilor şi a accidentelor hemoragice, precum şi necesitatea transfuziilor), permițând o supraviețuire de 40-75 % la un an.

Mod de administrare. Doze: 10-20 mg/kg c./zi, i.v. lent (în 4-6 ore), timp de 7-14 zile (în medie, 10 zile) sau 40 mg/kg c/zi, 4 zile [252].

ALG prezintă efecte asemănătoare ATG.

Mod de administrare. Doze: 0,75 ml/kg c/zi, i.v. lent (în 8-12 ore), timp de 8 zile, asociată cu Metilprednisolon 5 mg/kg c/zi, în zilele 1-8 şi 1 mg/kg c/zi, în zilele 9-14 [252].

Există însă unele **probleme dificile legate de utilizarea Ac policlonali** şi anume:

a) Preparatele nu sunt standardizate şi nu există metode obiective de evaluare a activității imunosupresive "in vivo" a vreunuia dintre aceste preparate. Astfel, doza necesară pentru a obține un efect clinic specific nu poate fi predeterminată.

b) Aceste preparate nu sunt selective pentru celulele T. Ele determină reacții cu alte tipuri de celule, inclusiv plachetele, putând conduce la o trombocitopenie gravă.

c) Ac heterologi sunt "recunoscuți" ca proteine străine de către sistemul imun al pacientului, provocând, astfel, un răspuns imun umoral, care poate determina boala serului. Uneori pot apare reacții anafilactice. În plus, complexele formate între Ac gazdei şi ALG pot precipita şi se localizează în glomerulii rinichiului transplantat. De aceea, se impune o

Scanned with OKEN Scanner

testare prealabilă s.c., cu 0,1 ml ATG din diluția 1 ‰. De asemenea, se impune o asociere cu Metilprednisolon 40 mg/kg c/zi, 14 zile. ALG se asociază cu Metilprednisolon 5 mg/kg c/zi, în zilele 1-8 şi 1 mg/kg c/zi, în zilele 9-14 [252].

d) Alte efecte adverse, locale, ale Ac policlonali sunt durerea şi eritemul la locul injectării.

Se pot dezvolta chiar limfoame histiocitare la locul injectării intramusculare de ALG (în regiunea fesieră corespunzătoare administrării ALG). Incidența limfoamelor, ca şi a altor forme de cancer este crescută la pacienții cu transplant de rinichi, atingând mai mult de 2% la supraviețuitorii unor perioade mai mari de la transplant. Se pare că, parțial, creşterea riscului cancerigen este legată de supresia sistemului normal de apărare al gazdei împotriva virusurilor oncogene sau a celulelor anormale.

Administrarea ALG se indică după transplantul unui organ (de exemplu, a unui rinichi), pe cale intramusculară, întâi zilnic, apoi discontinuu. Deoarece ALG se administrează în mod obişnuit cu Azatioprin şi Prednison, nu este posibilă evaluarea efectului folosirii neasociate a ALG la om, în transplantele renale. În schimb, este cert faptul că folosirea ALG oferă posibilitatea reducerii dozelor din celelalte medicamente imunosupresive utilizate. Unii cercetători consideră însă că utilizarea Ciclosporinei neasociate cu alt imunosupresiv ar fi cea mai avantajoasă metodă terapeutică în transplantul renal.

• ***ANTICORPII MONOCLONALI ANTILIMFOCITARI*** sunt utilizați tot mai mult în clinică, pentru a trata reacțiile de respingere a grefei de organ. Ei pot induce o stare de lipsă de răspuns imun selectivă sau toleranță imunologică, ceea ce constituie scopul imunosupresiei terapeutice. O direcție prioritară în transplantul de organ este aceea de a utiliza Ac cu specificitate crescută pentru subseturile de limfocite direct implicate în efectuarea reacțiilor. Această selectivitate prezervă funcția altor limfocite imunologic competente şi menține mecanismele de apărare imunitară [235].

Ac monoclonali pot fi împărțiți în două grupe generale: Ac orientați către subseturile specifice de celule T şi Ac reactivi în mod selectiv cu Ag prezente pe subseturile LyT, reprezentând ținta efectivă a răspunsului imun. Din primul grup, cel mai mult utilizați în clinică sunt Ac anti-OKT_3, Ac care reacționează cu determinantul CD3 de pe celulele T imunologic competente. Acești Ac monoclonali au fost utilizați pentru tratamentul reacțiilor acute de respingere a grefei de organ, rezistente la tratamentul cu glucocorticosteroizi

şi se află în studiu, posibila utilizare a acestor Ac ca un tratament iniţial imunosupresiv.

Terapia cu Ac monoclonali prezintă următoarele **efecte secundare**:

- efecte adverse imediate, cum ar fi: febră severă şi frisoane, cefalee, meningism, hipotensiune arterială, diaree, vărsături, dureri în timpul respiraţiei, şoc anafilactic, reacţii fatale au fost raportate foarte rar;
- efecte adverse după o administrare de lungă durată, cum ar fi: prevalenţă crescută a infecţiilor oportuniste şi neoplasme limfoproliferative.

Alţi Ac monoclonali din primul grup sunt reprezentaţi de Ac CAMPATH-1 (anticorpi limfolitici faţă de un Ag prezent pe cele mai multe limfocite, antigen notat CDw52) şi de Ac orientaţi faţă de Ag CD5 şi CD6 de pe celulele T imunologic competente.

Mai recent, au fost evidenţiaţi Ac specifici faţă de Ag CD4 sau CD8, capabili să inhibe reacţiile de respingere a transplantelor. Cercetările iniţiale au condus la observaţii importante care explică mecanismele intime implicate în respingerea organului transplantat. De exemplu, s-a demonstrat pe larg faptul că celulele T citotoxice CD8 sunt primii efectori în reacţia de respingere a grefei. Totuşi, în modelele experimentale, Ac monoclonali anti-CD4 par să fie mai eficienţi decât aceia specifici anti-CD8. Limfocitele T CD4 prezintă multiple funcţii, între care trebuie menţionate activităţile citolitice pentru celulele allogenice exprimând Ag HLA de clasa a II-a. Se pare că această reacţie este un important mecanism efector în respingerea grefei. Până în prezent nu s-a stabilit dacă aceşti Ac acţionează prin depleţia LyT CD4 sau prin inactivarea lor funcţională.

Date preliminarii sugerează că Ac monoclonali anti-CD4 pot avea un potenţial imunosupresiv egal sau mai mare dacât acela al Ciclosporinei. Este de asemenea evidentă sugestia că Ac anti-CD4 pot acţiona sinergic cu alţi agenţi imunosupresivi, cum ar fi Ciclosporina şi Ac anti-CD8, utilizaţi în scopul promovării acceptării grefei. În plus, Ac anti-CD4 pot să inducă toleranţa la înseşi Ac monoclonali de şoarece, astfel prevenind formarea de către gazdă a Ac neutralizanţi.

Al doilea grup de Ac monoclonali imunosupresivi sunt aceia orientaţi în mod specific faţă de anumiţi determinanţi antigenici prezenţi pe subseturile LyT. Aceşti receptori de membrană nu sunt exprimaţi pe celulele T în repaus, dar apar la scurt timp după ce celulele sunt activate pentru a realiza un răspuns imunologic.

Cei mai studiaţi dintre aceşti inhibitori sunt Ac monoclonali anti-Tac, ce reacţionează cu peptidul p55 al receptorului pentru IL-2. Ag Tac este exprimat pe limfocitele efectoare ale pacienţilor cu anumite boli autoimune şi pe celulele care participă la reacţiile de respingere a allografelor de organ.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, ei sunt prezenţi pe celulele neoplazice ale pacienţilor cu leucemie şi cu limfoame, cum ar fi leucemia acută a celulelor T indusă de virusul uman al leucemiei cu LyT (HTLV).

Atât Ac anti-Tac nemodificaţi, cât şi Ac conjugaţi, fie cu toxine, fie cu radioizotopi sunt în mod curent amintiţi pentru proprietăţile lor inhibitoare ale imunităţii. Rezultatele studiilor iniţiale indică faptul că aceşti Ac sunt inhibitori potenţiali ai reacţiilor de respingere a transplantelor şi sunt capabili să suprime manifestările bolilor autoimune. Datorită specificităţii lor pentru LyT activate, ei pot induce o imunosupresie selectivă, fără afectarea ulterioară a capacităţii SI de a răspunde la alte Ag.

Receptorul pentru transferină poate fi o altă ţintă pentru supresia cu Ac monoclonali imunosupresivi.

Există şi un al treilea grup de Ac monoclonali imunosupresivi, cei orientaţi faţă de moleculele ce determină adeziunea celulelor. Aceşti determinanţi membranari par să fie importanţi în transmiterea stimulilor de la celulele prezentatoare de Ag la limfocitele imunologic competente şi în efectuarea răspunsurilor citolitice ale limfocitelor antigen-stimulate. Prin blocarea situsurilor active ale acestor adeziuni moleculare, poate deveni posibilă inhibarea unui grup de răspunsuri imune nedorite.

Anticorpii monoclonali anti-limfocitari se prezintă sub formă de soluţii injectabile. Sunt indicaţi în tratamentul reacţiilor de respingere a grefelor de măduvă osoasă şi a transplantelor renale (în special Ac anti-OKT3).

În studiile clinice a fost folosit produsul Muromanab-CD3; OKT3 (Orthoclone OKT3®), sub formă de soluţie injectabilă, în fiole conţinând 5 mg/5 ml soluţie.

• ***GLOBULINA IMUNĂ*** sau Rh (D) Immune Globulin [235] este o soluţie concentrată 15% de IgG umane, conţinând un titru înalt de Ac împotriva Ag Rh (D) al globulelor roşii. Este folosită cu succes în prevenirea bolii hemolitice la nou-născuţi, în incompatibilităţile de Rh. Dacă se administrează la mama Rh negativă în primele 72 de ore după naşterea unui copil Rh pozitiv, la următoarele naşteri, copii nu prezintă boală hemolitică. Tratamentul este necesar şi la mamele Rh negative, care au prezentat avorturi sau sarcini ectopice, în care tipul Rh al fătului a fost necunoscut. Doza uzuală de globulină imună Rh (D) este de 2 ml, administrată pe cale intramusculară.

Reacţiile adverse sunt rare şi constau în disconfort local sau o uşoară creştere a temperaturii.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul supresiei răspunsului imun prin administrarea Ac specifici poate consta în eliminarea promptă a Ag străin după combinarea cu Ac sau poate fi un tip de "imunosupresie prin feed-back" în care o modificare a unui Ag determinată de combinarea sa cu Ac, face ca el să nu mai fie mult timp recunoscut ca străin de componentele SI. Dacă Ac produc "imunosupresie prin feed-back", probabil că ei acționează pe macrofage, LyT sau LyB (Fig. 3-4).

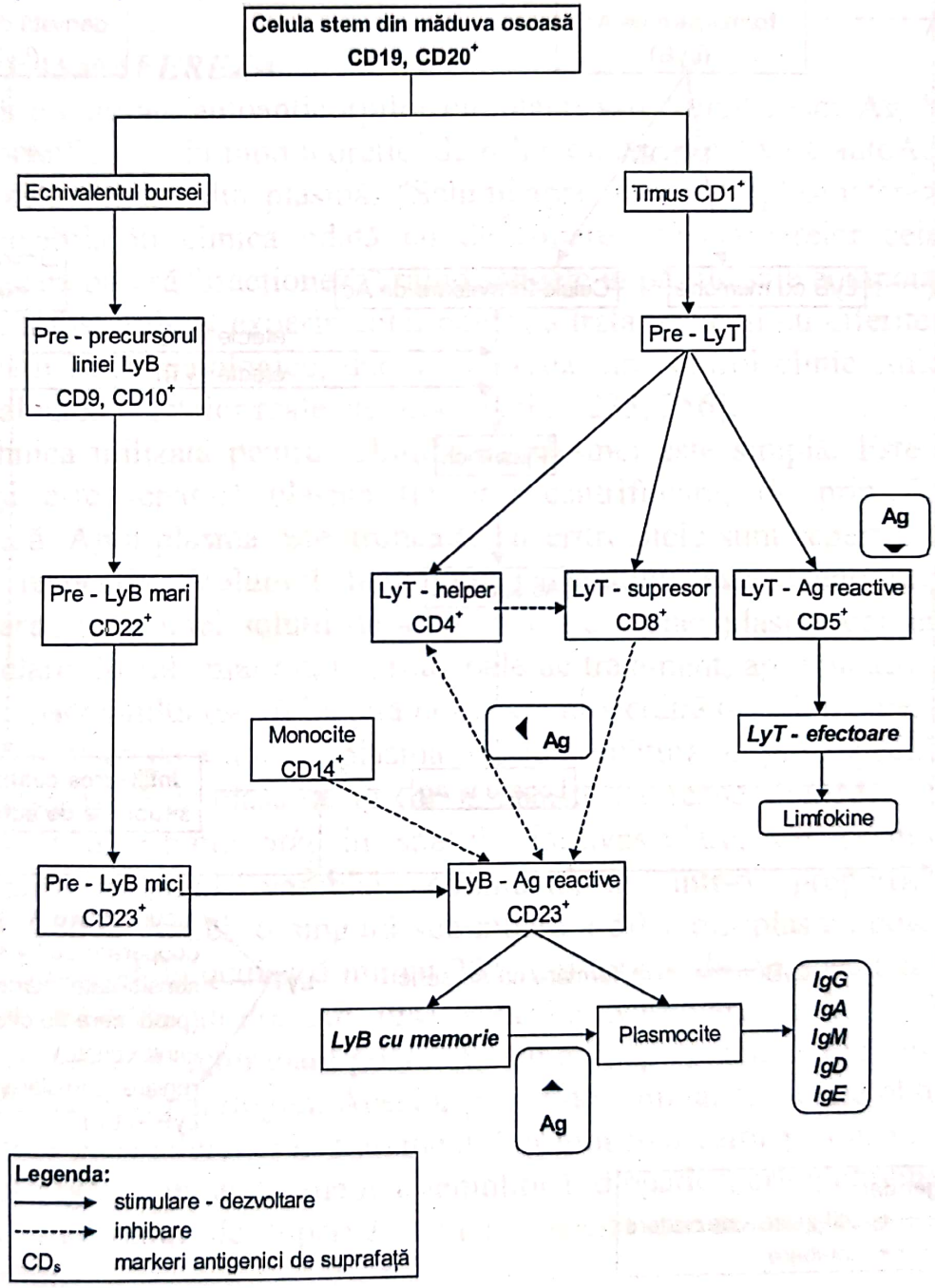


Figura 3. Geneza şi interacțiunile sistemului imunitar
(Schemă modificată, după Barbuto J.A.M. şi colab, 1995, citat bibl. 122, 123, 148)

Scanned with OKEN Scanner

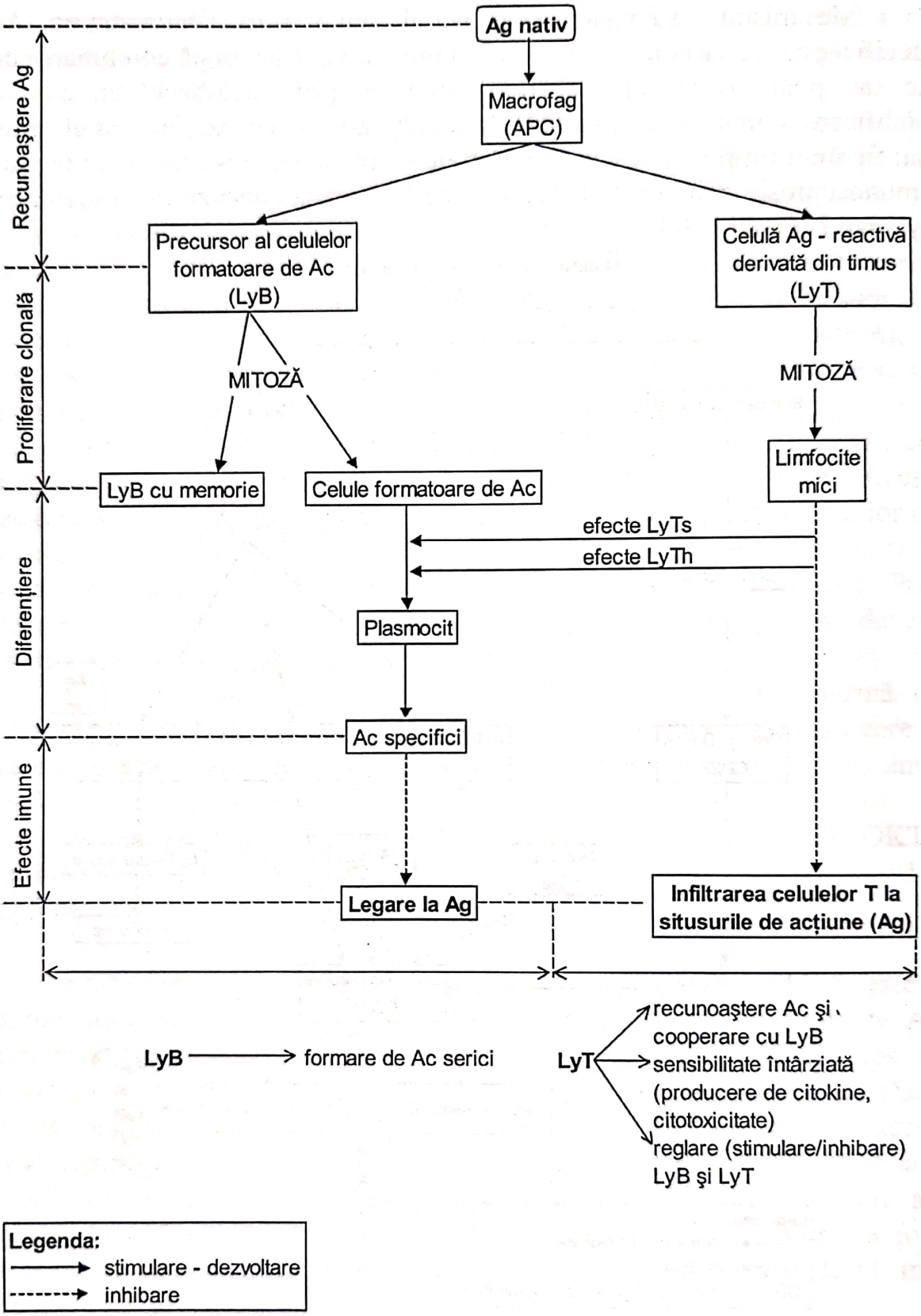


Figura 4. Reprezentarea schematică a imunităţii celulare şi umorale
(Schemă modificată, după Barbuto J.A.M. şi colab, 1995, citat bibl. 122, 123, 148)

Scanned with OKEN Scanner

Iunosupresia specifică se realizează şi prin inducerea în organism a sintezei de *Ac IgG-competitivi*, la indivizi atopici (cu hipersensibilitate imediată de tip I prin reagine – IgE). IgG sintetizate vor bloca prin competiţie IgE corespunzătoare unui anumit Ag sensibilizant. Imunizările repetate cu cantităţi minime de alergen duc la sinteza, în cantităţi optime, de antialergenul IgG respectiv, împiedicând prin competiţie, atât legarea acestuia cu IgE, cât şi impactul macrofage – alergen – IgE.

• ***PLASMAFEREZA***

Bolile datorate autoanticorpilor circulanţi sau complexelor Ag-Ac ar putea să beneficieze, în mod teoretic, de o înlăturare selectivă a autoAc sau a complexelor imune din plasmă. "Schimbarea plasmei" (plasmafereza) a devenit posibilă în clinică odată cu dezvoltarea separatoarelor celulare automate, capabile să "fracţioneze" rapid sângele în părţile sale componente. Procedeul a fost utilizat experimental pentru a trata pacienţi cu diferite boli cu implicaţii imunopatologice, dar nu a existat un control clinic suficient pentru evaluarea efectelor reale ale procedeului [235, 256].

Tehnica utilizată pentru schimbarea plasmei este simplă. Este scos sângele şi este separată plasma fie prin centrifugare, fie prin filtrare membranară. Apoi plasma este aruncată, iar eritrocitele sunt reperfuzate la pacientul respectiv. Volumul lichidului pacientului este menţinut prin administrarea fie a unei soluţii de albumină, fie a unei plasme conservate prin congelare. În cele mai multe protocoale de tratament, aproximativ 50% din plasma pacientului este înlocuită la fiecare procedură de schimbare.

Posibilitatea de a înlocui plasma pentru a înlătura un grup specific de Ac este dependentă de clasa de Ig căreia aparţin Ac respectivi. Moleculele de IgG sunt distribuite atât în spaţiile intravasculare, cât şi în cele extracelulare, sistemul vascular conţinându-le într-o proporţie de aproximativ 40%. Astfel, o singură schimbare a 50% din plasmă poate, în cel mai bun caz, să înlocuiască numai 20% din totalul de Ac specifici IgG. Dimpotrivă, 85-90% dintre Ac IgM sunt intravasculari, astfel încât, o singură procedură de schimbare poate înlocui aproape jumătate din întreaga cantitate de Ac IgM patologici. Acest aspect a determinat succesele obţinute prin folosirea plasmaferezei în tratamentul bolilor în a căror patogenie sunt implicaţi Ac IgM, cum ar fi: anemia hemolitică idiopatică, crioglobulinemia idiopatică, sindromul de hipervâscozitate asociat cu macroglobulinemia Waldenström.

Plasmafereza a fost cel mai mult utilizată cu succes pentru tratamentul a două boli autoimune cu implicaţii ale Ac IgG: miastenia gravis

Scanned with OKEN Scanner

şi sindromul Goodpasture. Trebuie notat faptul că ambele boli sunt caracterizate printr-un titru înalt al autoanticorpilor specifici de ţesut.

Plasmafereza a fost utilizată, cu efecte discutabile, în: artritele reumatoide rebele la alte tratamente, vasculitele autoimune, alte forme de vasculite, nefritele lupice, purpura posttransfuzională, sângerările prin Ac antifactor VIII, bolile neurologice mediate imunologic, cum ar fi, sindromul Guillain-Barré şi scleroza multiplă.

2.1.1.2. Imunosupresia nespecifică [4, 10, 30, 44, 49, 50, 75, 111, 122, 123, 173, 200, 201, 207, 235, 236]

Agenţii imunosupresori nespecifici pot fi clasificaţi astfel:

a) **Agenţi fizici**: radiaţiile X şi gamma;

b) **Agenţi chimici**:

b.1. agenţii alchilanţi:
- Ciclofosfamida
- Clorambucil
- Dacarbazina
- Procarbazina

b.2. *antagoniştii purinici*:
- Mercaptopurina
- Azathioprina
- Thioguanina
- Fudarabin-fosfat
- Cladribina

b.3. *antagonişti pirimidinici*:
- Fluorouracil
- Cytarabina
- Azacitidina

b.4. *antimetaboliţi*: - Metotrexat

b.5. *antiinflamatoarele nesteroidiene:*

b.5.1. Acidul acetilsalicilic

b.5.2. Derivaţi salicilaţi (alţii decât acidul acetilsalicilic)

- Colin Salicilat
- Salicilat de sodiu
- Salicilat de magneziu
- Tiosalicilat de sodiu
- Salsalat (Acid salicilsalicilic)
- Diflunisal

Scanned with OKEN Scanner

b.5.3. Derivați ai acidului propionic
- Ibuprofen
- Naproxen
- Fenoprofen
- Ketoprofen
- Carprofen
- Oxaprozin
- Pirprofen

b.5.4. Derivați de acid fenilalkanoic
- Flurbiprofen

b.5.5. Derivați ai acidului fenilacetic
- Diclofenac

b.5.6. Derivați ai acidului acetic
- Etodolac

b.5.7. Derivați ai acidului pirolacetic
- Tolmetin

b.5.8. Cetone
- Nabumetona

b.5.9. Sulfoxizi
- Sulindac

b.5.10. Derivați de indol
- Indometacin

b.5.11. Derivați pirazolonici
- Fenilbutazona
- Oxifenilbutazona
- Azapropazona

b.5.12. Derivați fenamați
- Meclofenamat
- Acid mefenamic
- Acid flufenamic
- Acid niflumic

b.5.13. Oxicami
- Piroxicam
- Meloxicam
- Ampiroxicam
- Droxicam
- Tenoxicam

Scanned with OKEN Scanner

b.6. *antireumatice modificatoare ale bolii (substanțe de sinteză/naturale şi analogii lor de sinteză):*

- Compuşi organici cu aur: - Aurothiomalat de sodiu
  - Aurothioglucoza
  - Auranofin
- Sulfasalazina
- 4-aminochinoline: - Clorochina
- D-penicilamina

b.7. *alți agenți chimici*: - Hidroxiureea
- Dapson
- Complexul Tetraclordecaoxigen

c) **Agenți virali**

d) **Substanțe naturale şi analogi de sinteză:**

- Alcaloizii: - Vinblastina
  - Vincristina
  - Podofilotoxina
- Colchicina
- Dextran
- Bucillamina
- Ciclosporina şi alte antibiotice cu efecte imunosupresoare
- Hormoni glucocorticosteroizi şi analogii lor de sinteză:
  - Cu acțiune de durată scurtă - medie
    - Hidrocortizon
    - Prednison
    - Prednisolon
    - Metilprednisolon
    - Meprednison
  - Cu acțiune de durată intermediară
    - Triamcinolon
    - Parametazon
    - Fluprednisolon
  - Cu acțiune de lungă durată
    - Betametazon
    - Dexametazon
- Ac şi complexe imune circulante
- Gama globulina
- alfa-fetoproteina

Scanned with OKEN Scanner

- Prostaglandine şi leucotriene

e) **Noi agenţi imunosupresori:**
- Mycophenolate mofetil
- Mizoribine
- Brequinar sodic
- 15-Deoxyspergualin
- Sirolimus (Rapamycin)
- Talidomida
- Leflunomid (HWA 486)

a) AGENŢII FIZICI

RADIAŢIILE produc efecte citolitice extinse, în special asupra celulelor tinere aflate în diviziune (celulele limfoide T şi B în curs de proliferare, consecutiv recunoaşterii Ag). Majoritatea limfocitelor sunt sensibile la radiaţiile X. Se produce astfel o limfopenie în organele limfatice şi în circulaţia generală. LyTs sunt cele mai sensibile, urmate de LyB şi LyTh.

Modul de acţiune al radiaţiilor ionizante constă în ionizarea atomilor tisulari, determinând apariţia de radicali liberi, foarte reactivi, care interacţionează cu ADN, denaturându-l. Celulele care se divid rapid sunt afectate preferenţial. Limfocitele mor în interfază, fără a suferi diviziuni, iar restul celulelor afectate (din măduvă, tub digestiv) mor după una sau două mitoze postiradiere. Efectul produs de radiaţii depinde de doză, iar iradierea integrală corporală este mult mai nocivă decât iradierea regională.

b) AGENŢII CHIMICI

b.1. Agenţii alchilanţi acţionează prin reacţie chimică cu bazele azotate din moleculele de ADN sau ARN sau din proteinele limfocitare, ceea ce duce la diminuarea sau suprimarea completă a unor funcţii ale SI.

• ***CICLOFOSFAMIDA*** se pare că este medicamentul cu cel mai mare potenţial imunosupresiv sintetizat până în prezent [30, 47, 50, 124, 235, 278]. Ciclofosfamida inhibă proliferarea celulelor limfoide (Fig. 5). Datorită unor posibilităţi mai slabe de refacere a lanţurilor ADN la nivelul LyB, acestea sunt mai puternic afectate decât LyT, iar dintre subseturile LyT, Ciclofosfamida este mai activă asupra LyTs decât asupra LyTh. Acest agent imunosupresor determină o inhibiţie pronunţată a răspunsurilor imune

Scanned with OKEN Scanner

mediate de IgG şi IgM, acţiunea sa fiind mai puţin semnificativă asupra răspunsurilor imune mediate de celulele T.

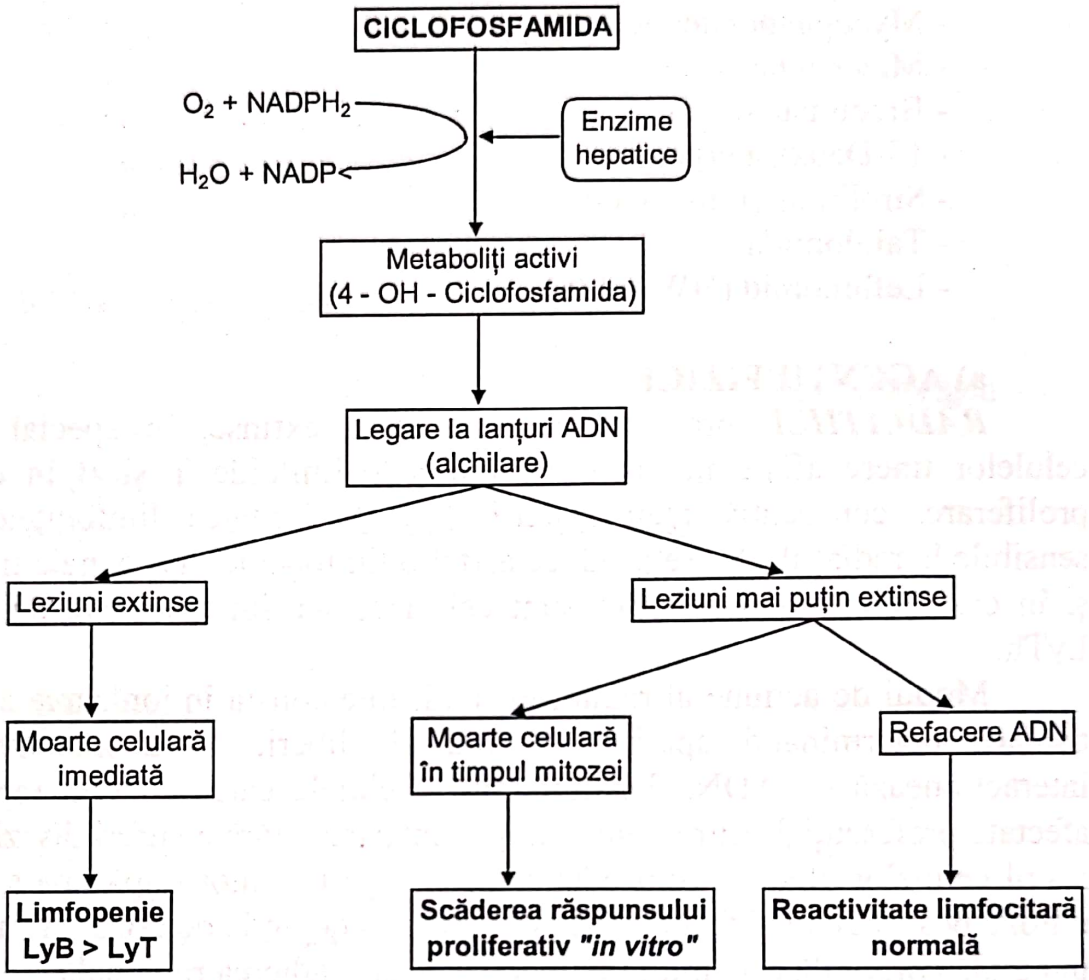


Figura 5. Efectul inhibitor al Ciclofosfamidei asupra proliferării celulelor limfoide (Schemă modificată, după Alan Winkelstein, 1994, citat bibl. 235)

Ciclofosfamida nu este activă ca un agent alchilant per se, ci prin formarea în organism a unor metaboliţi citotoxici. Aceşti derivaţi citotoxici se formează prin metabolizarea Ciclofosfamidei de către enzimele hepatice, dar şi prin biotransformări neenzimatice ale medicamentului. Nu a fost încă stabilită importanţa diferiţilor metaboliţi activi (4-hidroperoxiciclofosfamida şi fosforamidul) în variatele aspecte ale activităţii imunomodulatoare ale Ciclofosfamidei.

Ciclofosfamida este mielotoxică, determinând leucopenie absolută, cu scăderea granulocitelor, limfocitelor şi monocitelor. Efectul acestui agent asupra subpopulaţiilor limfoide umane depinde de doza administrată şi schema terapeutică. Terapia cronică cu Ciclofosfamidă sau doze relativ

Scanned with OKEN Scanner

scăzute în terapia acută (aproximativ 100 mg/m^2) determină o scădere selectivă a nivelurilor circulante de LyB.

Aceste date din clinica umană confirmă rezultatele experimentale pe animale de laborator (şoareci), care au arătat o depleţie preferenţială produsă de Ciclofosfamidă în ariile LyB din organele limfoide. La doze mai mici de 600 mg/m^2, s-a observat o relativă lipsă de efect pe celulele T CD4+. La doze mai mari, în schimb, au fost afectate în mod egal celulele CD4+ şi CD8+.

În afara efectului asupra funcţiilor SI mediate umoral şi celular, Ciclofosfamida prezintă diferite efecte şi pe mecanismele imunităţii înnăscute. Celulele mature ale liniei monocito-macrofagice nu sunt afectate de acest medicament. În schimb, Ciclofosfamida inhibă puternic activitatea celulelor NK.

Ciclofosfamida (Enoxan®, Cytoxan®, Neosar®) se administrează pe cale orală, în doze de 1-3 mg/kg corp/zi sau pe cale intravenoasă, în doze de 10-20 mg/kg corp/zi la intervale de 1-3 luni. Este condiţionată sub formă de tablete de 25 mg şi 50 mg, pentru administrare orală şi sub formă de pulbere pentru prepararea soluţiilor injectabile, în flacoane cu 100, 200, 500 mg şi 1 sau 2 g pulbere.

Este **indicată** în:

- artrite reumatoide şi vasculite şi alte afecţiuni reumatismale (unde întârzie evoluţia leziunilor cartilajului articular şi ale osului);
- lupus eritematos sistemic;
- granulomatoza Wegener;
- vasculite sistemice;
- anemie hemolitică autoimună;
- aplazie eritrocitară pură Ac-indusă;
- la pacienţi cu Ac antifactor XIII şi sindroame hemoragice.

Tratamentul cu Ciclofosfamidă, în special în doze mari, determină următoarele **efecte adverse**:

- depresie medulară (pancitopenie);
- reacţii gastro-intestinale (dureri abdominale, greţuri, vărsături);
- sterilitate (poate fi permanentă);
- alopecie;
- cistite hemoragice;
- infecţii oportuniste;
- neoplasme (limfoame, carcinoame ale vezicii urinare, leucemie acută mielogenă);
- sindrom Goodpasture;
- teratogeneză.

Scanned with OKEN Scanner

Încă din 1960 [Maguire şi Ettore, citaţi bibl. 235] şi, apoi, în 1970 [Poulter şi Türk, citaţi bibl. 235], s-a observat că dozele foarte mari pot induce o toleranţă aparentă specifică la un Ag nou, dacă medicamentul este administrat simultan sau la scurt timp după Ag.

• ***CLORAMBUCILUL*** este un medicament alchilant, care prezintă proprietăţi citotoxice similare cu acelea ale Ciclofosfamidei [123]. El este mai puţin toxic decât Ciclofosfamida, dar nu are aceeaşi capacitate imunosupresivă ca aceasta. Clorambucilul (Leukeran®) se administrează pe cale orală, în doze de 0,1-0,2 mg/kg corp/zi (6-12 mg/zi) .

Clorambucilul este **indicat** în:

- artrite reumatoide;
- lupus eritematos sistemic;
- granulomatoza Wegener;
- anemia hemolitică idiopatică şi crioglobulinemia esenţială (tratament de elecţie).

Clorambucilul nu determină alopecie sau cistite hemoragice şi este mai puţin iritant pentru tractul gastro-intestinal. În rest, determină toate celelalte efecte adverse întâlnite după tratamentul cu Ciclofosfamidă.

• ***DACARBAZINA***

Este un compus sintetic cu acţiuni alchilante, care se manifestă după metabolizarea microzomală hepatică prin N-demetilare a produsului. Se obţine un derivat monometil care se descompune spontan în 5-aminoimidazol-4-carboxamid, care este excretat în urină şi în diazometan. Diazometanul generează un compus metil carbonic care prezintă de asemenea, proprietăţi citotoxice [123].

Dacarbazina este administrată parenteral.

Prezintă următoarele efecte adverse:

- greţuri, vărsături;
- supresie medulară.

Indicaţiile majore ale Dacarbazinei sunt reprezentate de boala Hodgkin şi sarcoame.

• ***PROCARBAZINA***

Este un compus cu administrare orală, derivat de metilhidrazină, cu o eficienţă deosebită în boala Hodgkin [123].

Această substanţă inhibă sintezele ADN, ARN şi proteice. Prelungeşte interfaza şi produce alterări cromozomiale.

Scanned with OKEN Scanner

Prin metabolizarea oxidativă a procarbazinei de către enzimele microzomale hepatice, sunt produşi azoprocarbazina şi H_2O_2, care pot fi responsabili de sciziunea lanţului ADN. Metabolitul Procarbazinei prezintă de asemenea efecte citotoxice. Acest metabolit este un inhibitor al monoaminooxidazei, conferind Procarbazinei efectele adverse pe care le prezintă în general inhibitorii de monoaminooxidază.

Prezintă următoarele efecte adverse:
- are proprietăţi leucemogenice;
- induce anemie hemolitică;
- reacţii disulfiram-like;
- rash;
- este teratogen;
- este mutagen.

b.2. Antagoniştii purinici sunt agenţi citotoxici care acţionează prin încorporarea lor competitivă în bazele purinice ale ADN sau ARN limfocitar, determinând astfel inhibarea unor funcţii importante ale SI.

Imunosupresia cu Azathioprin sau Mercaptopurină se realizează la nivel molecular prin interferarea cu metabolismul acidului nucleic în etapa de proliferare celulară, ce urmează după stimularea antigenică. Aceşti agenţi farmacologici blochează imunitatea celulară, ca şi răspunsul primar şi secundar în Ac umorali.

• ***MERCAPTOPURINA*** (6-Mercaptopurina, 6-MP) a fost primul medicament din seria tiopurinelor folosite în terapia anticanceroasă. A fost sintetizată de Hitchings şi colab. în anul 1952, în laboratoarele firmei Wellcome [122, 123, 148].

După metabolizarea ei în ribonucleotidă, care este forma activă, 6-MP inhibă sinteza din acid inozinic atât a acidului adenilsuccinic, precursorul acidului adenilic, cât şi a acidului xantidilic, precursorul acidului guanilic. De asemenea, este inhibată reacţia de scindare a acidului adenilsuccinic în acid adenilic şi acid fumaric. Pe de altă parte, 6-MP inhibă prima fază a sintezei de novo a purinelor (care constă în formarea fosforibozilaminei din glutamină şi fosforibozil pirofosfat) printr-un mecanism de pseudo feed-back şi anume prin inhibarea alosterică a enzimei fosforibozilpirofosfatamidotransferaza.

6-MP este bine absorbită şi uniform distribuită în tot organismul. În vivo, 6-MP este supusă unei distrugeri catabolice, predominând produsele cu eliminare urinară, acidul tiouric şi sulfatul anorganic. Allopurinolul potenţează acţiunea 6-MP. Timpul de înjumătăţire al 6-MP în sânge este de

Scanned with OKEN Scanner

aproximativ 90 minute la om. La 12 ore după administrarea orală, substanța nu se mai detectează în urină.

6-MP prezintă următoarele **indicații**:

- leucemii acute (cu efect mai bun la copii decât la adulți);
- leucemii granulocitare cronice (determină doar remisiuni temporare);
- ca agent imunosupresiv, în: anemia hemolitică autoimună, glomerulonefritele acute, purpura trombocitopenică idiopatică (ca alternativă de tratament);
- boala lui Crohn, în cazurile corticodependente, refractare la alte terapii.

6-MP prezintă următoarele **efecte secundare** (care pot varia de la un bolnav la altul):

- depresie medulară (manifestată prin leucopenie şi chiar trombocitopenie, însoțite de sângerări);
- icter, necroză hepatică, ulcerații intestinale (foarte rar);
- simptome gastro-intestinale: anorexie, grețuri, vărsături, diaree;
- leziuni bucale asemănătoare micozelor;
- hiperuricemii şi hiperuricozurii (pentru prevenirea lor, se adaugă Allopurinol la tratamentul cu 6-MP);
- leziuni renale, manifestarea crizei acute de gută.

Trebuie evitată utilizarea medicamentului în primele luni de sarcină.

6-MP este condiționată sub formă de tablete de 50 mg: Puri-Nethol®, (Laboratoarele Wellcome, Londra), Mercaptopurin(+), (Institutul Oncologic Cluj).

Majoritatea autorilor recomandă o doză inițială de 2,5 mg/kg corp/zi, deci o medie de 100-200 mg/zi pentru adulți şi 50 mg/zi pentru un copil până la 5 ani. Tratamentul poate fi continuat cu această doză sub control săptămânal al leucogramei, eventual şi al medulogramei, zilnic, timp de mai multe săptămâni. În cazul în care, după 4 săptămâni de tratament, nu se observă o ameliorare clinică şi hematologică, doza poate fi crescută la 5 mg/kg corp/zi. Doza zilnică de Mercaptopurină poate fi administrată într-o singură priză.

Ulterior, prin observație clinică şi de laborator, se va stabili doza de întreținere convenabilă, pentru a evita o recădere precoce.

Scanned with OKEN Scanner

• ***AZATHIOPRINA*** este un derivat imidazolil al 6-MP şi acţionează prin inhibarea sintezei de noi purine [122, 123, 148].

Acest agent reprezintă prototipul agentului farmacologic cu acţiune citotoxică din grupa medicamentelor imunosupresive. Este bine absorbit la nivelul tractului intestinal; este metabolizat iniţial la Mercaptopurină, iar xantin-oxidaza scindează cea mai mare parte a formei active la acid 6-tiouric, care se elimină prin urină. De asemenea, după administrarea de Azothioprină, mici cantităţi de medicament nemodificat şi de Mercaptopurină sunt excretate la nivel renal, aceasta conducând la creşterea riscului toxic în cazul pacienţilor nefrectomizaţi şi la cei cu anurie. Deoarece cea mai mare parte a inactivării medicamentului este dependentă de xantin-oxidază, la pacienţii care primesc şi Allopurinol este necesară reducerea dozei la 1/4 sau 1/3 din doza uzuală, pentru a preveni creşterea gradului de toxicitate. Imunosupresia cu Azathioprină sau Mercaptopurină se produce prin interferarea cu metabolismul acidului nucleic în etapa de proliferare celulară ce urmează după stimularea antigenică. Acest agent farmacologic blochează imunitatea celulară, ca şi răspunsul primar şi secundar în Ac.

Indicaţiile Azothioprinei sunt următoarele:

- reacţiile de respingere a transplantului tisular;
- reacţia cronică GVH;
- artrite reumatoide;
- lupus eritematos sistemic;
- vasculite;
- boli inflamatorii ale intestinului;
- purpura trombocitopenică idiopatică;
- anemiile hemolitice autoimune;
- hepatite cronice active/ciroze biliare primare;
- miastenia gravis;
- scleroza multiplă.

Medicamentul este **contraindicat** la persoanele care prezintă hipersensibilitate faţă de substanţa activă.

Azothioprina prezintă următoarele **efecte adverse**:

- depresie medulară, manifestată în mod obişnuit prin leucopenie, dar şi anemie, trombocitopenie şi tulburări de coagulare;
- rash cutanat, febră medicamentoasă, greţuri şi vărsături, uneori, diaree şi alte simptome gastro-intestinale (apar la doze mari);
- foarte rar, disfuncţii hepatice, manifestate prin niveluri serice foarte ridicate ale fosfatazei alcaline şi ictere;
- infecţii intercurente (fungice, cu protozoare, virale, bacteriene).

Scanned with OKEN Scanner

Azathioprina (Imuran®, Imurek®, Imurel®) este condiționată sub formă de tablete de 50 mg şi 100 mg, pentru administrare orală şi sub formă de soluție injectabilă, în fiole de 20 ml, conținând 100 mg/ml, pentru administrare parenterală.

Imuran® se administrează în doză de 1,25-2,5 mg/kg corp/zi, pe cale orală.

• ***THIOGUANINA*** (6-TG) inhibă mai multe enzime din lanțul nucleotidelor purinice. Acțiunea citostatică a purinethiolilor este asociată cu variate leziuni metabolice, cum ar fi: inhibarea interconversiei nucleotidului purinic; scăderea nivelurilor intracelulare a nucleotidelor guaninice, ceea ce conduce la inhibarea sintezelor glicoproteinice; interferență cu formarea ADN şi ARN şi încorporarea purinethiolilor atât în ADN, cât şi în ARN [122, 123, 148].

6-TG se administrează în doze de 2 mg/kgc/zi, pe cale orală. În mod obişnuit este bine tolerată de organism. Doze mai mari pot determina depresia modulară.

6-TG prezintă următoarele **indicații**:

- leucemii acute mieloblastice (ca tratament de primă alegere sau ca tratament de întreținere);
- leucemie acută limfoblastică;
- leucemie granulocitară cronică.

6-TG are acțiune sinergică atunci când este utilizată în asociere cu Cytarabina în tratamentul leucemiei acute la adult.

6-TG prezintă următoarele **reacții adverse**:

- mielodepresie (cu leucopenie şi trombocitopenie, favorizarea infecțiilor);
- hiperuricemie, hiperuricozurie (risc de nefropatie cu urați);
- intoleranță gastro-intestinală, stomatită (rar);
- tulburări funcționale hepatice, icter.

Se va evita administrarea 6-TG în timpul sarcinii (mai ales în primul trimestru) şi în timpul alăptării.

Se administrează cu prudență sau se evită la bolnavii cu insuficiență hepatică sau renală avansate.

Thioguanina (Thioguanine®) se prezintă sub formă de comprimate cu 40 mg substanță activă.

Scanned with OKEN Scanner

• ***FLUDARABIN - FOSFAT***

Este un 2-fluoro-arabinofuranoziladenină monofosfat. Compusul este rapid defosforilat în organism, obținându-se 2-fluoro-arabinofuranoziladenină, care este fosforilat intracelular de către deoxicitidin kinaza, realizând compusul trifosfat [123].

Mecanismul de acțiune al Fludarabin-fosfatului constă în interferarea sintezelor de ADN prin inhibarea ADN polimerazei şi a ribonucleotid reductazei.

Prezintă următoarele **indicații:**

- bolile limfoproliferative.

Este administrat pe cale parenterală.

Este excretat prin urină.

Prezintă următoarele **efecte adverse:**

- efecte mielosupresoare.

• ***CLADRIBINA***

Este un derivat 2-clorodeoxiadenozină. Realizează concentrații mari intracelulare, fiind rezistent la acțiunea adenozin deaminazei. Acest compus este fosforilat sub acțiunea deoxicitidin kinazei şi este încorporat în ADN. Cladribina produce scurtarea lanțurilor ADN [123].

Prezintă următoarele **indicații:**

- leucemia cu celule "păroase".

Se administrează sub formă de perfuzii, o dată la 7 zile.

Prezintă următoarele **efecte adverse:**

- mielosupresie;
- scăderea rezistenței la infecții.

b.3. Antagoniştii pirimidinici

Antagoniştii pirimidinici, datorită încorporării lor competitive în bazele pirimidinice ale ADN sau ARN limfocitar, produc blocarea enzimelor implicate în sinteza ADN sau ARN, cu inhibarea funcțiilor imunitare, în special la nivelul LyB.

• ***FLUOROURACIL (5-FU)*** [122, 123, 148], prin metabolizare, trece în ribozil şi deoxiribozil-nucleotid. Unul dintre aceşti metaboliți, 5-fluoro-2`-deoxiuridin-5`-fosfat (FdUMP), formează printr-o legătură covalentă, un complex ternar, cu enzima timidilat-sintetaza şi cofactorul său N-5,10-metilentetrahidrofolat, o reacție "critică" pentru sintezele nucleotidelor timinice. Aceasta determină inhibarea sintezelor ADN prin

Scanned with OKEN Scanner

"moartea" fragmentelor timinice. 5-FU, după conversia lui la 5-fluorouridin-trifosfat, este încorporat în ARN şi interferă cu procesarea şi funcţia ARN. Citotoxicitatea 5-FU este, astfel, datorată efectelor sale, atât pe ADN, cât şi pe ARN.

5-FU are un timp de înjumătăţire plasmatic scurt. Este activ pe cale orală şi intravenoasă, dar biodisponibilitatea este mai bună după administrarea pe cale injectabilă.

5-FU prezintă următoarele **efecte adverse**:

- greţuri;
- ulceraţii ale mucoasei bucale şi gastro-intestinale;
- depresie medulară.

Fluouracilul se administrează în doze de 15 mg/kg corp/zi, intravenos, în perfuzie lentă, timp de 5 zile. Doza de întreţinere este de 15 mg/kg corp/săptămână, pe cale intravenoasă.

• ***CYTARABINA*** **(Ura-C, Cytosar-U)** acţionează selectiv asupra fazei S a ciclului celular [122, 123, 148]. Este transformată în 5'-mononucleotid sub acţiunea unei dezoxicitidin-kinaze (Ara CMP). În continuare, Ara CMP este metabolizată şi transformată în trifosfat (Ara CTP), care inhibă competitiv ADN-polimeraza. Aceasta are ca rezultat blocarea sintezelor de ADN şi ARN, iar formarea proteinelor continuă, ajungându-se la un dezechilibru crescut.

De asemenea, Cytarabina este încorporată în ARN şi ADN. Încorporarea în ADN conduce la interferarea cu alungirea lanţului şi legarea defectuoasă a fragmentelor de ADN nou sintetizate.

Timpul de retenţie celulară pentru Ara CTP se pare că este corelat cu letalitatea determinată de această formă pentru celulele maligne.

După administrarea sa intravenoasă, medicamentul este supus metabolizării, în cea mai mare parte prin deaminare, cu obţinerea unui metabolit inactiv. Păstrarea unui anumit raport între enzima cu activitate anabolică (deoxicitidin-kinaza) şi enzima de inactivare catabolică (citidin-deaminaza) este foarte importantă pentru eficienţa acţiunii citotoxice a Cytarabinei.

Cytarabina este **indicată** în tratamentul leucemiei mieloblastice acute.

Efectele adverse sunt reprezentate de:

- greţuri şi vărsături;
- depresie medulară;
- megaloblastoze;
- leucopenie, trombocitopenie.

Scanned with OKEN Scanner

Cytarabina se administrează în doză de 100 mg/m^2/zi, timp de 5-10 zile, fie intravenos în perfuzie continuă, fie subcutanat, în doze parțiale, la 8 ore interval între ele.

• ***AZACITIDINA*** (5-azacitidina) este un medicament citotoxic cu multiple efecte [122, 123, 148]. El este fosforilat şi transformat în mononucleotid sub acțiunea uridin-citidin kinazei. Rezultă Azacitidin 5`-fosfat, care inhibă orotidilat decarboxilaza, ceea ce determină scăderea producției de nucleotizi pirimidinici. Mai departe, are loc încorporarea Azacitidinei în ADN şi ARN, ca şi inhibarea sintezei de ADN, ARN şi proteine.

Timpul de înjumătățire este de 3-6 ore. Cea mai mare parte din medicament este excretată nemodificată; restul este excretat sub formă deaminată.

Medicamentul trebuie protejat de lumină şi menținut la un pH uşor acid, deoarece este uşor instabil (modificându-se structural la variațiile de pH).

Este medicament de a doua linie **indicat** în tratamentul leucemiilor acute.

Prezintă următoarele **efecte adverse**:

- grețuri şi vărsături, diaree;
- febră;
- hipotensiune arterială;
- hipoplazie medulară (mai ales, în tratamentul de lungă durată).

Azacitidina este administrată intravenos, în doze de 200 mg/m^2/zi, timp de 5 zile.

b.4. Antimetaboliții (antagoniştii acidului folic) se leagă de enzima dihidrofolat-reductaza, intervenind, astfel, în sinteza purinelor, care, la rândul lor, participă la sinteza proteinelor şi ADN limfocitar.

• ***METOTREXAT (MTX)*** este un antagonist al acidului folic care se leagă la situsul activ catalitic al dihidrofosfat reductazei (DHFR), interferând cu sinteza formei reduse, care acceptă unitățile cu un carbon. În absența acestui cofactor, se întrerupe sinteza timidilatului, nucleotid purinic şi a aminoacizilor serină şi metionină, interferând, astfel, cu formarea ADN, ARN şi aproteinelor. Enzima leagă puternic Metotrexatul şi, la un pH de 6, practic nu este posibilă nici o disociere a complexului enzimă-inhibitor (inhibiție constantă de aproximativ 1 nMol/l). La un pH fiziologic, se

Scanned with OKEN Scanner

realizează o cinetică competitivă reversibilă (inhibiție constantă de aproximativ 1 micromol/l). Formarea intracelulară a derivaților poliglutamați se pare că este importantă în acțiunea terapeutică a Metotrexatului [122, 123, 148, 213].

Poliglutamații au o acțiune inhibitorie a DHFR echivalentă cu a Metotrexatului și sunt reținuți în celule un timp mai îndelungat decât Metotrexatul. Astfel, ei au o durată de acțiune mai mare decât Metotrexatul.

Rezistența celulelor tumorale la Metotrexat a fost atribuită la 4 factori:

f_1 - scăderea transportului medicamentului;

f_2 - DHFR modificată, cu o afinitate mai mică pentru Metotrexat;

f_3 - scăderea formării poliglutamaților;

f_4 - sinteze ale unor niveluri crescute de DHFR.

Aceste aspecte se realizează prin amplificare genică și au ca rezultat o creștere marcată în ARN_m pentru DHFR. Rămâne de clarificat dacă acest mecanism de rezistență genetic determinat apare și la alte medicamente sau este caracteristică numai pacienților cu tumori tratați cu Metotrexat.

Stabilirea căii și a modului de aplicare a chimioterapiei cu MTX sunt dependente de factori legați de caracterele bolii, ca și de starea clinico-biologică a organismului. Medicamentul nu se metabolizează în organismul uman.

În cazul administrării injectabile, o mică fracțiune din doza injectată se localizează în diferite țesuturi (ficat, rinichi, splină și mucoasa intestinală) pentru perioade de timp de până la 190 de zile după administrare.

După o doză orală, peste 90% este excretată în urină în 12 ore. Excreția renală se face printr-un proces activ la nivelul tubilor contorți proximali. Restul este excretat pe calea tubului digestiv, provenind din căile biliare. Metotrexatul este **indicat** în:

- transplantele medulare pentru profilaxia reacțiilor GVH;
- artrite reumatoide;
- psoriazis și artrite psoriazice;
- polimiozite/dermatomiozite;
- sindromul Reiter;
- leucemii acute limfoblastice și nelimfoblastice la adulți și copii, boala Hodgkin în stadiile III și IV, micozis fungoid, histiocitoza X;
- neoplazii aflate în faze avansate de evoluție: cariocarcinomul placentar, cancerul mamar, ovarian, pulmonar, al extremităților tubului digestiv, cancerele epidermoide ale regiunii capului și gâtului.

În tratamentul neoplaziilor este eficient singur, dar mai ales în asociere cu alte citostatice sau în asocieri terapeutice cu radioterapia.

Scanned with OKEN Scanner

MTX are următoarele **contraindicații**:

- contraindicații **absolute**: insuficiență renală clinic manifestă sau latentă, primele 6 luni de sarcină;
- contraindicații **relative**: stări de denutriție, caşexii, infecții severe, leucotrombopenii, anemii, pancitopenii, hipoproteinemii, insuficiențe hepatice, stări postoperatorii, exereze extinse, sarcină (ultimele 3 luni de sarcină), alăptare.

Metotrexatul prezintă următoarele **efecte adverse**:

- tulburări gastro-intestinale (stomatite, diaree, mucositis);
- depresie medulară (cu pancitopenie);
- anemie hemolitică autoimună;
- fibroze hepatice;
- pneumonii prin mecanisme imunologice;
- tulburări neuropsihice, accidente hemoragice cerebrale (în administrări intrarahidiene);
- scăderea fertilității;
- diureză apoasă crescută şi o excreție mare de cationi bivalenți.

Metotrexatul se administrează în doze medii de 2,5-5 mg/zi, pe cale orală, timp de 3 săptămâni, în două doze parțiale pe zi, la un interval de 12 ore între prize. Se poate administra şi intrarahidian, în doze de 10 mg, odată sau de 2 ori pe săptămână. MTX se mai poate administra pe cale intravenoasă, intraarterială, intramusculară, intralimfatică, subcutanată, intrapleural, intraperitoneal, intragastric, intravezical, intratumoral.

În insuficiența renală, Metotrexatul este absolut contraindicat. Clinicienii recomandă determinarea clearence-ului creatininei endogene, înainte de instituirea tratamentului cu Metotrexat.

În administrarea concomitentă cu Triamterenul, Metotrexatul interacționează în trei moduri:

- creşterea absorbției de MTX de către limfocitele circulante, datorită unei modificări la nivelul membranei celulare;
- creşterea DHFR în țesuturile normale, dar nu şi în cele neoplazice, ceea ce contribuie la ameliorarea efectelor terapeutice ale MTX;
- tratamentul cu Triamteren are un efect diuretic care poate modifica excreția MTX prin competiția la nivelul tubilor contorți proximali.

Administrarea concomitentă de Factor Citrovorum (Leucovorin®) poate înlătura sau ameliora efectele adverse ale MTX, dar şi efectul său terapeutic.

De aceea, în cazul administrării concomitente de Leucovorin (6 mg la 6 ore interval, atât timp cât se aplică perfuzii cu MTX şi încă 24 de ore după oprirea lor), doza de MTX este de 40-50 mg/24 ore, care se injectează în

Scanned with OKEN Scanner

perfuzie cu 500 ml ser fiziologic sau ser glucozat 5%. La 500 ml de soluție perfuzabilă se adaugă și 5000 unități de Heparină. Tratamentul se poate continua timp de 5-10-14 zile sau și mai mult, în raport cu toleranța individuală.

Medicamentul nu se asociază cu sulfamide sau salicilați din cauza acțiunii lor competitive la nivel celular. Nu se asociază cu L-asparaginază din cauza anihilării acțiunilor antitumorale.

În cursul tratamentului cu MTX se vor urmări: hemoleucograma (săptămânal), starea funcțională a rinichiului.

Metotrexatul (Antifolan®, Amethopterina®) este condiționat în flacoane conținând Metotrexat sodic echivalent cu 5 mg Metotrexat, sub formă de pulbere pentru prepararea de soluție injectabilă.

b.5. Antiinflamatoarele nesteroidiene

Antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS) controlează inflamația prin mecanisme variate [30, 49, 50, 122, 123, 148, 173, 235, 236]. Astfel, deși o componentă importantă a acțiunii lor antiinflamatorii și antialgice este datorată inhibării sintezei prostaglandinelor (PG) inflamatorii (de exemplu, Flurbiprofen, Fenamații și Diclofenac), proporția în care aceste medicamente afectează producția de PG este variabilă. Există date care precizează că unele AINS (de exemplu, Indometacin, Piroxicam, Fenilbutazonă, Azapropazonă) exercită și alte moduri de acțiune, neprostaglandinice. Printre aceste **acțiuni** se pot număra:

- inhibarea producției și acțiunilor radicalilor de oxigen cu o putere mare de distrugere a țesuturilor, în special a anionului superoxid, generat de PMN activate (care determină lipidperoxidarea și "atacul" chimic al proteinelor și acizilor nucleici);
- inhibarea diapedezei la nivelul venulelor postcapilare, cu acumularea consecutivă și penetrarea PMN și a celulelor mononucleare în țesuturile inflamate;
- inhibarea reacțiilor mediate de Ca^{2+} în PMN;
- inhibarea eliberării și/sau a acțiunii enzimelor proteolitice din lizozomi sau din alte surse;
- inhibarea producției de kinine;
- inhibarea producției sau acțiunilor IL-1 și a citokinelor înrudite; astfel, AINS inhibă activitatea hipotalamusului de inducere a febrei;
- acțiunile de inhibare a sintezelor de proteoglicani și glicosaminoglicani și a fosfaților care înmagazinează o cantitate mare de energie, din țesuturile conjunctive.

Scanned with OKEN Scanner

AINS stimulează activitatea LyTs, ceea ce oferă o posibilă explicație a faptului că aceste medicamente scad nivelurile factorului reumatoid la pacienții cu artrite reumatoide. Acest efect terapeutic poate fi atribuit inhibării acțiunii de stimulare a PGE asupra producției de factor activator al osteoclastelor și inhibării eliberării de colagenază de către monocite.

Pe de altă parte, o consecință a inhibării ireversibile a ciclooxigenazei prin acid acetilsalicilic este aceea că agregarea plachetară este blocată timp de 8 zile (adică pentru un timp care reprezintă o jumătate din durata de viață a plachetelor) [123].

Plachetele, fiind celule anucleate nu sunt capabile de reînnoirea sintezelor de prostaglandin-sintetaze. Terapeutic, efectul acidului acetilsalicilic este foarte important, deoarece, astfel, producția de prostanoid agregant plachetar – TXA_2 – este blocată de către acidul acetilsalicilic pe o perioadă de câteva zile (dependentă de doza de medicament), conducând la o prevenire de lungă durată a coagulării sângelui.

Doze mici (60-100 mg/zi) de acid acetilsalicilic sunt suficiente pentru a asigura controlul asupra agregării plachetare, fără a afecta producția de prostaciclină antiagregantă – PGI2 – de către celulele endoteliale ale vaselor sanguine.

AINS pot fi grupate, după locul de acțiune și efectele principale ale mecanismului lor de acțiune, astfel:

- Antiinflamatoare care inhibă COX-2 reducând, astfel, în special, sinteza PG implicate în procesele patologice și a TXA_2:
  - Ibuprofen
  - Flurbiprofen
- Antiinflamatoare care inhibă COX-1, reducând, astfel, sinteza tuturor PG și a TXA_2:
  - Ibuprofen
  - Indometacin
  - Piroxicam
  - Acid acetilsalicilic
  - Flurbiprofen
- AINS care inhibă fosfolipaza A_2, inhibând, astfel, toate PG, TXA_2 și LT:
  - Indometacin
- AINS care blochează receptorii pentru PG, reducând astfel acțiunile PGE_2/F_{2alfa}:
  - Fenamații
  - Salicilații

◆ AINS care blochează agregarea şi activarea PMN şi a monocitelor, reducând astfel sursele mediatorilor inflamaţiei:

- Piroxicam
- Indometacin
- Acidul acetilsalicilic (salicilatul, ca metabolit al acidului acetilsalicilic)
- Ibuprofen

◆ AINS care inhibă producerea de oxiradicali de către leucocite, reducând astfel proporţia radicalilor care distrug ţesuturile:

- Salicilaţii
- Azapropazona
- Piroxicam
- Fenilbutazona

◆ AINS care blochează sinteza proteoglicanilor în articulaţii, favorizând astfel evoluţia leziunilor cartilajului articular:

- Indometacin
- Acid acetilsalicilic
- Ibuprofen

AINS prezintă următoarele **efecte adverse** (întâlnite cu :o frecvenţă mai mare):

- efecte gastro-intestinale: gastrite, ulcer duodenal, ulcer gastric;
- efecte renale: scăderea clearence-ului creatininei, insuficienţă renală acută, nefrite interstiţiale;
- efecte pe SNC: cefalee, confuzie, scăderea memoriei, modificări de personalitate (în special la persoanele mai în vârstă);
- efecte care apar numai la o parte dintre AINS: depresia medulară (după Fenilbutazonă), rash cutanat (după Meclofenamat), hematologice (în special, salicilaţii), reacţii imunologice tip III (în special, salicilaţii).

• ***ACIDUL NIFLUMIC*** stimulează răspunsul proliferativ al celulelor splenice la mitogenele LyB şi LyT, precum şi răspunsurile LyTc [81].

• ***INDOMETACIN*** se utilizează împreună cu IL-2 umană recombinată. Produce creşterea activităţii celulelor NK activate de limfocite, în culturi de celule splenice de şoarece. Această activare nu se produce însă în absenţa macrofagelor, de unde rezultă rolul acestora în inducerea efectului [81, 270].

Scanned with OKEN Scanner

• Pirfenidone (DESKAR®) este un derivat de 5-metil-L-fenil-2(IH)-Piridonă, cu efecte antiinflamatorii, aflat în stadii experimentale [34].

Prezintă următoarele **efecte farmacodinamice**:

- inhibă producția de TNFα, dependent de doză (100-200 mg/kgc, intraperitoneal, în doză unică, zilnică);
- inhibă sinteza și eliberarea de IL-1 și IL-6.

Datorită acestor efecte, se sugerează eficiența sa în tratamentul unor fibroze pulmonare (Raglin, 1997, citat bibl. 34), scleroze peritoneale [Taniyama și colab., 1998, în curs de publicare, citați bibl. 34], în tratamentul artritei reumatoide, ai sclerozei multiple și al bolii Alzheimer [Feldman, Brennan și Maini. 1996; Owens și Sriram, 1995; Malek-Ahmadi, 1996, citați bibl. 34]; în tratamentul bolii Crohn [Beil, Weller, Peppercorn, Galli și Dvorak, 1995, citați bibl. 34].

De asemenea, Pirfenidone inhibă producția de radicali liberi de oxigen [Iyer, Schiedt, Margolin, Hyde și Giri, 1995; Lurton și colab., 1996; Shimizu, Fukagawa, Kurokawa, Jamauchi și Margolin, 1996; Vallyathan, Giri, Leonard și Margolin, 1996, citați bibl. 34]. Pirfenidone, la doze de 200 mg/kgc, intraperitoneal, inhibă șocul endotoxinic indus experimental cu LPS/Galactosamină.

Mecanismul molecular de acțiune al acestui compus nu este cunoscut.

• ***Tenidap (CP-66 248)*** este un nou agent antiinflamator aflat în faza experimentului de laborator, cu următoarea structură: 5-cloro-2,3-dihidro-2-oxo-3-hidroxi-2-tienilmetilen-1-carboxamid. Prezintă următoarele mecanisme moleculare de acțiune:

- inhibă ciclooxigenaza și lipoxigenaza [Carty și colab., 1998; Fogh și colab., 1998; Smith și colab.; 1990, citați bibl. 162];
- inhibă producția de IL-1de către macrofage [Mc Donald și colab., 1998; Otterness și colab., 1998, citați bibl. 162];
- inhibă producția de IL-6 de către monocite [Loose și colab., 1990; Sipe și colab., 1992, citați bibl. 162];
- inhibă diferențierea macrofagelor [Littman și colab., 1990, citați bibl. 162];
- inhibă activitatea și reacția de răspuns la stimuli a limfocitelor Th [Mc Donald și colab., 1998, citați bibl. 162].

Efectele sale farmacodinamice au fost testate experimental pe șoarece, administrându-se doze de 10 mg, 20 mg sau 40 mg/kgc/zi, pe cale orală, pe o durată cuprinsă între 0-8 săptămâni. Rezultatele au fost comparate cu cele ale Piroxicamului, administrat pe cale orală, în doze de

Scanned with OKEN Scanner

1,5 mg/kgc/zi, pentru aceeaşi perioadă de tratament. S-a constatat că Tenidap prezintă efecte antiinflamatorii (produce reducerea simptomelor unei artrite induse experimental cu colagen) mai puternice decât Piroxicam, efectul maxim obţinându-se după 6 săptămâni de tratament.

Tenidap a produs o scădere mult mai accentuată decât Piroxicamul a titrului de anticorpi IgG anti-colagen II, la şoareci cu artrită experimentală colagen-indusă. Pe de altă parte, este cunoscut faptul că antiinflamatoarele nesteroidiene aflate în terapia curentă nu scad titrul anticorpilor IgG anti-colagen II şi nici severitatea simptomelor artritei colagen-induse [Sloboda A şi colab., 1981, citaţi bibl. 162]. Astfel, se sugerează că efectele inhibitorii ale Tenidapului asupra artritei colagen-induse se realizează mai mult pe calea mecanismelor imunologice, decât pe calea influenţării "cascadei" acidului arahidonic.

Efectele Tenidapului sunt dependente de doză, cele mai bune rezultate obţinându-se la doza de 40 mg/kgc/zi, administrată timp de 8 săptămâni. La această doză este inhibată şi distrucţia osoasă la şoarecii cu artrită colagen-indusă.

b.6. Antireumaticele modificatoare ale bolii (substanţe de sinteză/naturale şi analogii lor de sinteză) [30]

• ***COMPUŞII ORGANICI CU AUR*** utilizaţi în terapie sunt:

- ***Aurothiomalatul de sodiu*** (Myochrysin®)
- ***Aurothioglucoza*** (Solganal®)
- ***Auranofin*** (Ridaura®)

Compuşii cu aur inhibă colagenaza şi alte metaloendopeptidaze, gelatinaza, stromalizine, legându-se specific la nivelul situsurilor lor active [50]. Activitatea acestor enzime este dependentă de participarea unui atom de zinc în situsul activ al enzimei. Aurul poate să interfere fie cu activarea acestor enzime, fie cu cataliza sub acţiunea enzimei active.

Compuşii cu aur au următoarele **efecte la nivel celular** [50, 235]:

- inhibă formarea şi eliberarea mediatorilor inflamaţiei din fagocite (efect demonstrat numai pentru Auranofin);
- inhibă eliberarea de radicali oxidanţi;
- inhibă chemotaxina;
- inhibă eliberarea de enzime lizozomale;
- inhibă procesarea antigenului de către celulele prezentatoare de antigen;
- inhibă citotoxicitatea mediată celular;
- inhibă sintezele de anticorpi.

Scanned with OKEN Scanner

Acumularea de aur în sinoviala articulației inflamate din artrita reumatoidă se caracterizează prin formarea de vacuole încărcate cu aur numite aureosomi.

Terapia cu compuşi de aur este **indicată** în:

- artrita reumatoidă activă;
- artrita reumatoidă juvenilă;
- artrita psoriazică.

Compuşii cu aur prezintă următoarele **efecte adverse** [50, 122, 123, 235]:

- rash cutanat;
- diaree, greţuri, vărsături; enterocolite;
- dermatite pruriginoase (în special după terapia orală), pigmentarea pielii;
- trombocitopenie, leucopenie, pancitopenie (1-10% din cazuri), anemie aplastică, eozinofilie;
- stomatite, gust metalic;
- proteinurie, care poate progresa spre sindrom nefrotic;
- icter colestatic, insuficienţă hepatică;
- nevrite periferice;
- infiltrate pulmonare;
- depozite de aur corneene;
- reacţii nitritoide (transpiraţii, stări lipotimice, roşeaţa pielii, cefalee), în special după Aurothiomalat de sodiu;
- agravarea tranzitorie a simptomelor artritei.

Pentru compuşii cu aur cu administrare parenterală se indică doze de 50 mg/săptămână, până la 1000 mg/săptămână, pe cale intramusculară. Dacă prin folosirea unei doze de 1 g săptămânal se obţin rezultate favorabile, fără efecte adverse serioase, se poate continua administrarea medicamentului pe o perioadă nedefinită, la intervale de 2, 3 şi apoi 4 săptămâni.

Pentru compusul cu aur cu administrare orală se indică 6 mg/zi, crescând doza până la 9 mg/zi, dacă nu se obţine un răspuns favorabil cu primă doză, după 3 luni de tratament.

Un răspuns clinic evident se obţine după o terapie de 4 luni cu compuşi de aur.

În timpul tratamentului se determină săptămânal numărul trombocitelor, hemoleucograma, teste funcţionale hepatice, parametrii urinari. Apariţia nefrozei, trombocitopeniei, leucopeniei şi dermatitei exfoliative impune oprirea tratamentului, în această situaţie reintroducerea medicamentului fiind contraindicată.

Scanned with OKEN Scanner

Compuşii cu aur nu se asociază cu Penicillamina, deoarece acest agent chelator poate lega aurul, grăbind eliminarea acestuia pe cale urinară sub formă de complexe inactive.

* Aurothiomalatul de sodiu (Myochrysin®) se prezintă sub formă de suspensie injectabilă, conţinând 25 sau 50 mg/ml.

* Aurothioglucoza (Solganal®) se prezintă sub formă de suspensie injectabilă, conţinând 50 mg/ml.

* Auranofin-ul (Ridaura®) se prezintă sub formă de capsule, conţinând 3 mg substanţă activă.

• ***SULFASALAZINA*** (Azulfidin®) a fost introdus în 1940 în tratamentul artritelor reumatoide. Ulterior s-a dovedit eficient şi în tratamentul colitelor ulcerative, colitelor Crohn, dar nu şi în boala Crohn a intestinului subţire. Sulfasalazina combină Sulfapiridin-ul cu Acidul 5-aminosalicilic, unite printr-o grupare "azo".

Medicamentul este slab absorbit la nivelul intestinului. Gruparea "azo" este scindată în partea inferioară a colonului, de către flora bacteriană a acestuia. S-a emis ipoteza că porţiunea neabsorbabilă a salicilatului este partea cea mai activă a medicamentului.

Sulfasalazina reduce semnificativ viteza de sedimentare a hematiilor, după 8 săptămâni de tratament, în doze de 2-3 g/zi, administrate fracţionat. În colitele ulcerative are efecte benefice datorită Acidului 5-aminosalicilic generat local prin scindarea grupării "azo". Acidul 5-aminosalicilic inhibă sintezele de leucotriene.

Sulfasalazina prezintă următoarele **efecte biochimice şi celulare** [50]:

- efecte biochimice: inhibarea enzimelor implicate în metabolismul folatului, diminuarea absorbţiei folatului şi inhibarea 5-lipooxigenazei şi tromboxansintetazei de către Acidul 5-aminosalicilic;
- efecte celulare: modularea funcţiei limfocitelor, inhibarea degranulării mastocitelor şi inhibarea motilităţii leucocitelor.

Doza obişnuită este de 2-4 g/zi, administrată fracţionat.

Efectele secundare apar la doze de 4 g/zi, la 20% dintre pacienţii trataţi şi sunt următoarele:

- stare generală influenţată;
- greţuri, disconfort abdominal;
- cefalee;
- reacţii alergice (de tip boala serului);
- depresia măduvei hematoformatoare.

Scanned with OKEN Scanner

Deoarece Sulfasalazina inhibă absorbția acidului folic, în tratamentul cu acest medicament se administrează suplimentar folat.

Sulfasalazina se prezintă sub formă de tablete de 500 mg sau sub formă de suspensie conținând 250 mg substanță activă/5 ml, pentru administrare orală.

Relativ recent au fost obținuți alți doi compuși cu administrare orală, derivați din Acidul 5-aminosalicilic. Ei devin activi în jumătatea distală a intestinului, fără a prezenta efectele adverse observate în cazul absorbției sistemice a Acidului 5-aminosalicilic. Aceşti compuşi sunt:

* Olsalazin (Dipentum®), cu administrare orală,. Se prezintă sub formă de capsule de 250 mg.

* Balsalazid, aflat în stadiul de experiment.

• ***4-AMINOCHINOLINELE***

Clorochina este un compus din familia 4-aminochinolinelor, folosit inițial în tratamentul malariei. Ulterior, utilizarea Clorochina şi a produsului înrudit, Mepacrin, în tratamentul malariei, a evidențiat eficiența lor în tratamentul lupusului eritematos discoidal. Rezultatele experimentului clinic au arătat că aceşti compuşi, Clorochina şi derivatul său, Hidroxiclorochina, sunt mai puțin toxici decât Mepacrin-ul şi că pot influența favorabil evoluția artritei reumatoide şi a lupusului eritematos sistemic.

După administrarea pe cale orală, Clorochina este bine absorbit, atingând concentrații modeste în plasmă şi concentrații mult crescute în unele țesuturi, cum ar fi: ficatul, splina, rinichiul şi plămânul, ca şi în leucocite şi țesuturi bogate în melanină. Clorochina se acumulează, de asemenea, în choroidă şi corpul ciliar, fiind toxic pentru retină, atunci când se administrează în doze mari şi pentru perioade mari de timp.

Clorochina are următoarele **efecte farmacodinamice** [50, 235]:

- efecte pe ADN: inhibarea ADN şi ARN-polimerazei şi intercalarea în dublul helix al ADN;

- inhibări de enzime: inhibarea ornitin-decarboxilazei, limitarea biosintezelor enzimatice de poliamine, inhibarea fosfolipazei A_2 (o enzimă importantă în metabolismul acidului arahidonic, precursor al eicosanoizilor);

- liposomotropism: inhibarea digestiei intracelulare, interferența cu reciclarea receptorului asociat cu endosomul, inhibarea funcției lizozomale a fagocitelor, în special a macrofagelor, cu efecte consecutive pe productia de citokine, procesarea si prezentarea Ag la limfocite, în prezența determinanților MHC.

Clorochina prezintă următoarele **indicații**:

Scanned with OKEN Scanner

- artrita reumatoidă
- lupusul eritematos sistemic
- ca medicament antimalaric şi antiamoebian.

Efectele secundare ale Clorochinei sunt:
- stare generală influenţată;
- simptome gastro-intestinale, anorexie;
- cefalee de intensitate medie, confuzie, psihoze, convulsii, tulburări auditive;
- prurit, urticarie, dermatita exfoliativă;
- anemie hemolitică la persoanele cu deficit în G-6-PDH;
- tulburări ale hemostazei;
- hipotensiune arterială, cardiomiopatii;
- miopatie.

Contraindicaţiile sunt următoarele:
- psoriazis
- porfirie
- sarcină.

Se foloseşte cu precauţii la pacienţii cu:
- afecţiuni hepatice
- alcoolism
- boli neurologice
- boli hematologice.

Nu se administrează în asociere cu medicamente antiacide şi cu unele medicamente antidiareice (caolin, carbonat de calciu, trisilicat de magneziu) deoarece interferă cu absorbtia Clorochinei. Aceste medicamente pot fi luate după 4 ore de la administrarea Clorochinei.

Clorochina se prezintă sub formă de tablete conţinând Clorochină fosfat (Aralen®, Arechin®, Clorochin®), 250 şi 500 mg/tabletă, pentru administrare orală şi sub formă de soluţie pentru administrarea parenterală, conţinând Clorochină hidroclorică (Aralen HCL®), 50 mg/ml.

• ***D-PENICILAMINA*** este un D-isomer al β,β-dimetilcisteinei, un produs de degradare prin hidroliza acidă a Penicilinei [50, 235, 236, 256]. Datorită acţiunii sale de agent chelator al cuprului, D-penicilamina este folosită pe scară largă în tratamentul bolii Wilson, care este caracterizată prin degenerare hepato-celulară datorată depozitării anormale a cuprului.

Utilizarea D-penicillaminei în artrita reumatoidă s-a bazat iniţial pe observarea capacităţii sale de a disocia macroglobulinele, între care sunt

Scanned with OKEN Scanner

incluşi factorul reumatoid şi autoanticorpii prezenţi la niveluri mari în lichidul sinovial şi plasma pacienţilor cu artrită reumatoidă.

D-penicilamina prezintă următoarele **efecte farmacodinamice**:

- efecte biochimice: chelarea cuprului, clivajul legăturilor disulfidice, formarea legăturilor disulfidice cu cisteina, inhibarea lisil-oxidazei;
- efecte celulare: stimularea superoxid-dismutazei şi a acţiunii acesteia asupra radicalului superoxid format de celulele fagocitice, inhibarea mitogenezelor limfocitelor prin radicali liberi conţinând cupru.

Combinaţiile D-penicillaminei cu cuprul, inhibă răspunsurile LyT la mitogene. Aceste efecte sunt puternice asupra LyT_h şi LyT_s şi de mică intensitate sau nule asupra LyB.

S-au emis ipoteze că D-penicilamina poate antagoniza efectul vitaminei B_6, prin formare de complexe cu piridoxal-fosfatul. Totuşi, aceste ipoteze nu sunt demonstrate practic, deoarece alte medicamente cu activitate antagonistă proceselor mediate de vitamina B_6, nu sunt eficiente în tratamentul artritei reumatoide.

D-penicilamina inhibă fibroza, un proces dependent de depunerea tisulară anormală a colagenului. De asemenea, are efecte asupra grupelor thiol, observaţie bazată pe nivelurile scăzute ale grupelor thiol în plasmă şi, de asemenea, pe modificările în reactivitatea thiol-albuminei.

Determinările nivelurilor glutationului intracelular au arătat creşteri, ceea ce sugerează efecte de stabilizare a membranei celulare, pentru a proteja împotriva radicalilor liberi de oxigen şi efecte pe lipid-peroxidaze şi sintezele de eicosanoizi.

D-penicilamina este **indicată** în:

- artrita reumatoidă;
- boala Wilson;
- cisteinurie.

Terapia se începe cu administrarea orală de 125-250 mg/zi; dacă nu se obţin rezultate, se creşte progresiv doza, până la 750 mg/zi. Absorbţia Penicilaminei este redusă de alimente, sărurile de fier, antiacide. De aceea, se administrează pe stomacul gol şi nu se asociază cu aceste medicamente [256]. Efectele apar după 3-4 luni de tratament. Unii autori recomandă administrarea concomitentă de Piridoxină (10-25mg/zi), pentru a preveni efectele inhibitorii asupra enzimelor piridoxal-dependente [256]. Întârzie evoluţia leziunilor osoase şi ale cartilajului articular, în artrita reumatoidă.

Nu se asociază cu preparate de aur, pentru că accelerează eliminarea aurului.

Scanned with OKEN Scanner

D-penicilamina prezintă următoarele **efecte adverse [256]**:
- febră medicamentoasă;
- leucopenie, trombocitopenie, anemie aplastică;
- leziuni renale, cu proteinurie asociată cu complexe imune nefritice;
- disfuncție hepatică;
- tulburări gastro-intestinale;
- boli autoimune: miastenia gravis, polimiozita, LES.

Efectele adverse impun întreruperea tratamentului, în 40% din cazuri. Incidența efectelor adverse după D-penicillamină este mai mare în cursul tratamentului artritei reumatoide, decât în celelalte indicații terapeutice. Este contraindicată la pacienții alergici la penicilină [256].

b.7. Alți agenți chimici

• ***HIDROXIUREEA*** blochează sinteza ADN limfocitar [50, 122, 123]. Hidroxiureea este un analog al ureei, al cărui mecanism de acțiune implică inhibarea sintezelor de ADN. Compusul exercită un efect letal pe celulele în faza S, prin inhibarea enzimei ribonucleotid reductaza, rezultând depleția deoxinucleozidului trifosfat.

Indicațiile Hidroxiureei sunt următoarele:
- melanoame;
- leucemii granulocitare cronice;
- carcinoame gastrice sau pancreatice.

Medicamentul se administrează pe cale orală, în doze de 300 mg/m^2, timp de 5 zile.

Efectele adverse sunt reprezentate de:
- grețuri, vărsături, diaree;
- depresie medulară.

La doze mai mari de 40 mg/kg corp/zi, Hidroxiureea determină megaloblastoze, care nu cedează la tratament cu Vitamina B_{12} sau Acid folic.

• ***DAPSON*** este o difenil-sulfonă utilizată pe scară largă în terapia leprei şi ca agent antimalaric. Dapson-ul are o utilizare minimă în tratamentul artritelor reumatoide, datorită eficienței sale limitate şi toxicității inacceptabile. Este însă utilizat cu rezultate favorabile în dermatitele herpetiforme, boli autoimune cutanate caracterizate prin depunerea de complexe imune şi activarea complementului [50].

Scanned with OKEN Scanner

Dapson-ul determină următoarele **efecte farmacodinamice**:

- efecte biochimice: inhibarea sintezelor de lecitină, probabil un efect de inhibare a biosintezelor de fosfatidilcolină de către diferite tipuri de celule, inclusiv macrofagele, inhibarea dihidrofolat reductazei;
- efecte celulare: inhibarea mitogenezei limfocitelor, inhibarea formării şi eliberării mediatorilor de către PMN.

Dapson-ul are efecte pe numeroşi parametri ai inflamaţiei acute:

- inhibarea formării edemului în inflamaţia indusă de complexe Ag-Ac;
- efecte analgezice;
- efecte antipiretice.

De asemenea, Dapson-ul are efecte favorabile în inflamaţia cronică, fiind folosit ca adjuvant în tratamentul artritelor şi dovedindu-şi eficienţa în granuloamele experimentale.

Dapson-ul este bine absorbit la nivelul mucoasei intestinale şi se distribuie în mod egal în toate lichidele şi ţesuturile organismului. T1/2 plasmatic este de 1-2 zile. Există tendinţa de reţinere a medicamentului în piele, muşchi, ficat şi rinichi. Dapson-ul, ca toate sulfonele, este excretat în bilă şi reabsorbit în intestin. Excreţia urinară este realizată diferit, în cea mai mare parte sub formă de metabolit acetilat. In insuficienţa renală, trebuie redusă doza de Dapson.

Doza uzuală este de 25-50 mg pe săptămână pe cale orală, crescând doza cu câte 25 mg/săptămână, până la 400-600 mg/săptămână. La copii, doza este proporţional scăzută. Dapson-ul se prezintă sub formă de tablete de 25 şi 100 mg.

Efectele adverse determinate de Dapson sunt următoarele:

- anemie hemolitică la persoane cu deficit de G-6-PDH;
- methemoglobinemie;
- intoleranţă gastro-intestinală;
- febra, prurit, rash cutanat;
- eritem nodos.

Acedapson-ul este un medicament înrudit cu Dapson-ul, un derivat 4,4-diacetamidodifenilsulfonic. O administrare unică intramusculară de 300 mg poate menţine niveluri inhibitorii similare cu cele ale Dapson-ului, în ţesuturi, pentru o perioadă de peste 3 luni.

Scanned with OKEN Scanner

• ***COMPLEXUL TETRACLORDECAOXIGEN***

A fost utilizat inițial ca dezinfectant. Prezintă următoarele **efecte farmacodinamice**:

- inhibă migrarea PMN;
- inhibă producția de LyTB4, "in vitro", după stimularea PMN cu ionoforul Ca^{2+}, A 23157 (M.Tissot, 1990, citat bibl. 81).

c) AGENȚII VIRALI

Virusurile (rubeolic, rujeolic, Coxsackie, gripal, Herpes simplex etc.) pot scădea nivelul imunității umorale și/sau celulare prin mecanisme complexe, de la efectul direct limfocitotoxic până la suprimarea "semnalului" de activare a nucleului limfocitar, imediat după recunoașterea antigenică și, respectiv, până la producerea dezechilibrului funcțional Th/Ts, cu scăderea activității subpopulației Th sau creșterea activității inhibitoare a subpopulației Ts.

d) SUBSTANȚE NATURALE ȘI ANALOGI DE SINTEZĂ:

• ***ALCALOIZII*** (Vinblastina, Vincristina, Podofilotoxina) determină oprirea ciclului de multiplicare a limfocitelor activate de Ag, în metafază [122, 123].

Vinblastina (Velban®) este un alcaloid obținut din *Vinca rosea*. Mecanismul său de acțiune implică depolimerizarea microtubulilor, care reprezintă o parte importantă a citoscheletului și a axei mitotice. Vinblastina se leagă în mod specific de tubulina proteică microtubulară în formă dimerică; complexul medicament–tubulină se adaugă la porțiunea terminală a microtubulilor, realizând astfel depolimerizarea acestora.

Rezultă o blocare a mitozei în metafază, întreruperea axei mitotice și interferența cu segregarea cromozomilor.

Vinblastina prezintă următoarele **indicații**:

- boala Hodgkin;
- alte limfoame.

Se administrează în doze de 0,1-0,2 mg/kgc, i.v., o dată pe săptămână.

Are următoarele **efecte adverse**:

- grețuri și vărsături;
- tardiv, alopecie;
- diminuarea reflexelor;
- depresie medulară.

Sub investigație clinică se află o serie de compuși înrudiți cu Vinblastina, cum ar fi: Desacetilvinblastina (Vindesine®) și Vinzolidina.

Scanned with OKEN Scanner

Vincristina (Oncovin®) este tot un alcaloid obținut din *Vinca rosea*, cu structură asemănătoare cu a Vinblastinei. Are un mecanism de acțiune identic cu cel al Vinblastinei, blocând ciclul mitotic. Cu toate aceste similarități cu Vinblastina, Vincristina are un spectru diferit al utilizărilor clinice şi este calitativ diferită din punctul de vedre al toxicității.

Vincristina este **indicată**, în asociere cu Prednisonul pentru inducerea remisiunii în leucemia acută la copii. De asemenea, este indicată în neoplasmele cu proliferare rapidă.

Vincristina se administrează în doze de 1,5 mg/m^2, săptămânal, pe cale i.v. (doza maximă este de 2 mg/m^2, săptămânal).

Efectele adverse apar tardiv şi sunt reprezentate de:

- areflexie;
- stare de "oboseală musculară";
- nevrite periferice;
- ileus paralitic;
- depresie medulară de intensitate medie;
- alopecie.

Datorită acestor efecte adverse, utilizarea sa în terapie este limitată.

Podofilotoxina. Sunt utilizați doi compuşi, VP-16 (Etoposid®) şi VM-26 (Teniposid®), derivați semisintetici ai podofilotoxinei, care este extrasă din rădăcina de *Podophyllum peltatum*.

Etoposid-ul şi Teniposid-ul sunt similare ca structură chimică, ca mecanism de acțiune (blochează faza S-G_2 a ciclului celular) şi din punct de vedere clinic. Acțiunea acestor compuşi implică degradarea ADN (posibil pe calea inhibării topoizomerazei), inhibarea nucleozidului de transport şi inhibarea transportului mitocondrial de electroni.

După administrarea i.v., medicamentele se leagă de proteine şi se distribuie în întreg organismul, cu excepția creierului. Excreția este predominant urinară, cu excepția unei mici cantități care se elimină în bilă.

Etoposid-ul este indicat în: leucemia monocitară, cancerul testicular, carcinoamele pulmonare. Teniposid-ul este indicat în terapia diferitelor limfoame.

VP-16 se administrează i.v., în doze de 50-100 mg/m^2, zilnic, timp de 5 zile.

Prezintă următoarele **efecte adverse**:

- imediate: grețuri, vărsături;
- tardive: depresie medulară, cardiotoxicitate.

Scanned with OKEN Scanner

• ***COLCHICINA*** este un alcaloid izolat din *Colchicum autumnale*, utilizat pe scară largă în tratamentul crizei acute de gută [50, 60, 62, 122, 123, 235, 236]. Colchicina este utilizată, uneori şi ca adjuvant în terapia cu AINS, a gutei cronice şi poliarticulare şi, de asemenea, ca agent profilactic, în doze mici (0,6 mg o dată sau de două ori pe zi), pentru a preveni criza acută.

Recent, acest compus a fost utilizat ca agent profilactic în febra familială mediteraneană şi în tratamentul amiloidozelor.

De asemenea, Colchicina determină o încetinire a progresiei cirozelor la pacienţi cu afecţiuni hepatice alcoolice.

Mecanismul de acţiune al Colchicinei nu este complet cunoscut. Compusul se leagă la microtubulii celulari, astfel încât are loc ruperea microtubulilor neutrofilelor, ceea ce determină diminuarea chemotaxiei, adezivitaţii, fagocitozei şi degranulării. De asemenea, Colchicina inhibă formarea leucotrienei B_4.

Efectele adverse ale Colchicinei sunt următoarele:

- diaree sanguinolentă;
- şoc;
- hematurie, oligurie;
- deprimare ascendentă a SNC.

În criza acută de gută, doza iniţială de Colchicină este de 0,5-1 mg, pe cale orală, urmată de 0,5 mg la 2 ore interval, până la ameliorarea durerii sau până la apariţia greţurilor şi a diareei. Doza zilnică poate fi administrată şi pe cale i.v., fără a depăşi 8 mg pe 24 de ore.

Doza profilactică de Colchicină este de 0,5 mg X 1(3)/zi.

Colchicina se prezintă sub formă de tablete de 0,5 şi 0,6 mg şi sub formă de soluţie pentru administrare parenterală, conţinând 1 mg/2 ml soluţie.

• ***DEXTRANUL*** deprimă sinteza proteinelor limfocitare [30].

• ***BUCILLAMINA*** [N-(2-mercapto-2-metil-propanoil)-L-Cisteină] este un compus similar cu D-penicilamina [81]. Prezintă efecte benefice în artrita experimentală indusă cu adjuvanţi. Probabil, acţionează prin scindarea legăturii "S-S" a Ig şi a factorului reumatoid, la bolnavii cu artrită reumatoidă. La aceşti pacienţi, produce o creştere a nivelului LyT supresoare până la valori normale.

Scanned with OKEN Scanner

• ***CICLOSPORINA*** este un antibiotic cu structură peptidică, izolat dintr-un fung, *Tolypacladium inflatum Ganus* [30, 50, 62, 109, 122, 123, 135, 148, 192, 207, 235]. Compusul este neutru, bogat în aminoacizi hidrofobi, insolubil în apă şi n-hexan, dar solubil în mulţi alţi solvenţi organici şi în lipide.

Ciclosporina inhibă selectiv funcţia şi proliferarea LyT, datorită interferenţei selective cu transcripţia IL-2 şi nu alterează proliferarea liniilor celulare de limfocite independente de IL-2.

Ciclosporina limitează în special efectele LyTh, inhibă producţia de IL-2 şi, probabil, reduce exprimarea receptorilor pentru IL-2. La dozele mici, la care este folosit în clinica transplantelor, acest compus inhibă activitatea LyTh activate, dar nu lezează mecanismul primar de apărare a organismului împotriva infecţiilor bacteriene şi virale.

Absorbţia Ciclosporinei la nivelul intestinului subţire este incompletă şi este redusă şi mai mult în disfuncţiile intestinale. Medicamentul este metabolizat în ficat şi excretat în bilă. Nivelurile sanguine ale Ciclosporinei sunt puternic afectate în disfuncţiile hepatice, de medicamentele inductoare sau inhibitoare ale enzimelor hepatice de metabolizare, precum şi de fluxul biliar scăzut.

Independent de efectele imunosupresoare şi la doze mult mai mici decât cele imunosupresoare, Ciclosporina A prezintă efecte hepatoprotectoare. Ciclosporina A ameliorează funcţiile ficatului, diminuând leziunile provocate de ischemie/reperfuzie prin reducerea generării de radicali liberi superoxizi şi creşterea conţinutului de ATP celular [Kawano şi colab., 1991; Wakabayasji şi colab., 1992, citaţi bibl. 62] sau prin stimularea acţiunii unor citokine, cum ar fi IL-6 şi TNF (conducând la o intensificare a microcirculaţiei hepatice [Sakr şi colab., 1993, citaţi bibl. 62].

Ciclosporina prezintă următoarele **indicaţii**:

- boli autoimune: lupusul eritematos sistemic, artrita reumatoidă, granulomatoza Wegener, hepatite cronice active, nefroze lipoidice, boli inflamatorii ale intestinului;
- pentru prevenirea reacţiei de rejet al transplantului de organ în: transplantul de rinichi, transplantul de cord, transplantul de ficat, transplantul de măduvă osoasă, transplantul de plămân;
- ciroze biliare;
- hepatite cronice autoimune;
- hepatite toxice;

Scanned with OKEN Scanner

- hepatite induse de consumul cronic de alcool etilic [Varga şi Burris, 1989, citaţi bibl. 62].

Medicamentul nu este eficient în tratamentul reacţiei de rejet a transplantului deja instalate.

Efectele adverse ale Ciclosporinei sunt reprezentate de:

- nefrotoxicitate (fibroză interstiţială ireversibilă şi atrofie tubulară) [250];
- hipertensiune arterială;
- hepatotoxicitate;
- creşterea frecvenţei limfoamelor induse de virusuri Epstein-Barr;
- hirsutism;
- hiperplazie gingivală;
- neurotoxicitate (tremor, parestezie, uneori convulsii);
- sindrom hemolitic-uremic;
- creşterea susceptibilităţii la infecţii oportuniste;
- unele malignizări: neoplasme cutanate, limfoame nehodgkiniene.

Ciclosporina (Sandimmune®) se prezintă sub formă de capsule de 25 mg şi 50 mg, de soluţie pentru administrare orală, conţinând 100 mg/ml soluţie şi sub formă de soluţie pentru administrare i.v. conţinând 50 mg/ml. Se administrează în doze variabile, cuprinse între 5-20 mg/kgc/zi, pe cale orală sau intravenoasă.

• ***ALTE ANTIBIOTICE CU EFECTE IMUNOSUPRESOARE***

Tacrolimus (FK-506) este un antibiotic macrolid, cu o puternică acţiune imunosupresoare [62, 122, 123, 235]. El este de 100 ori mai activ decât Ciclosporina, în suprimarea reacţiilor de rejet al transplantelor. De asemenea, FK-506 are mai puţine efecte secundare decât Ciclosporina.

Deşi din punct de vedere biochimic, este diferit de Ciclosporină, FK-506 acţionează prin mecanisme similare. Ambii agenţi terapeutici îşi exercită acţiunile imunosupresive prin afectarea predominantă a funcţiilor LyT_h. Una dintre consecinţele majore o constituie inhibarea marcată a sintezei şi secreţiei de IL-2. FK-506 nu este limfolitic sau toxic pentru progenitorii medulari.

Prezintă efecte hepatoprotectoare, care sunt independente de efectele sale imunosupresoare [Francavilla şi colab., 1991, citaţi bibl. 62]. Menţine homeostazia calcică în cursul leziunilor de reperfuzie postischemică a ficatului, prin realizarea unui status de impermeabilitate parţială a mitocondriei faţă de fluxul ionilor de Ca^{2+} şi, posibil, prin inhibarea intrării calciului din lichidul extracelular în citoplasmă. Alte mecanisme prin care realizează efecte hepatoprotectoare faţă de leziunile provocate de

Scanned with OKEN Scanner

ischemie/reperfuzie sunt reprezentate de reducerea generării de radicali liberi superoxizi, creşterea conţinutului de ATP celular [Kawano şi colab., 1991; Wakabayasji şi colab., 1992, citaţi bibl. 62] sau prin stimularea acţiunii IL-6 şi a TNF, conducând la o intensificare a microcirculaţiei hepatice [Sakr şi colab., 1993, citaţi bibl. 62].

Tacrolimus, ca şi Ciclosporina, prezintă efectele hepatoprotectoare la doze mult mai mici decât dozele imunosupresoare.

Receptorii mitocondriali pentru aceşti compuşi joacă un rol cheie în reglarea permeabilităţii mitocondriale, pe care Ciclosporina A şi Tacrolimus o inhibă, fără a fi necesară interacţiunea cu calcineurina [Dhar şi colab., 1996; Nicolli şi colab., 1996, citaţi bibl. 62]. Pe de altă parte, se sugerează că disfuncţia mitocondrială reprezintă cheia într-o serie de leziuni celulare, cum ar fi: ischemia, stresul oxidativ, neurodegenerarea excitotoxică cu un efect "ultimativ" pe proteinele intracelulare şi intramitocondriale. Tratamentul medicamentos poate modula permeabilitatea "porilor" mitocondriali, cu realizarea unei impermeabilităţi parţiale pentru fluxul ionilor Ca^{2+} în mitocondrie.

Atât în cazul Ciclosporinei A, cât şi în cazul Tacrolimus, se realizează interferarea unei enzime (PPI-aza), care facilitează plierea proteinelor.

FK-506 prezintă următoarele **indicaţii**:

- ciroze biliare;
- hepatite cronice autoimune;
- hepatite toxice;
- hepatite induse de consumul cronic de alcool etilic [Varga şi Burris, 1989, citaţi bibl. 62].

FK-506 are un indice terapeutic mai bun decât Ciclosporina. Ca şi Ciclosporina, FK-506 este moderat diabetogenic, deoarece inhibă eliberarea insulinei din celulele insulare şi, probabil, creşte rezistenţa la insulină. FK-506 este neurotoxic. În schimb, determină mai slab hipertensiune arterială şi efecte nefrotoxice. FK-506 determină, ca şi Ciclosporina, dar mai rar, hiperplazie gingivală şi hirsutism, în schimb nu produce tulburări metabolice, cum ar fi: hiperuricemie şi hipercolesterolemie, notate la Ciclosporină.

Complicaţiile tardive includ, însă, infecţii oportuniste şi neoplasme, consecutive imunosupresiei cronice.

- ***Doxorubicin*** (Adriamycin®) este un antibiotic antraciclinic, agent activ cu acţiune citotoxică, antitumorală [122, 123, 235, 278].

Mecanismul molecular de acţiune constă în intercalarea medicamentului în dublul helix al ADN.

Scanned with OKEN Scanner

Interacţiunea acestui agent şi a antraciclinelor înrudite (de exemplu: Doxorubicin-ul) cu SI şi evidenţierea acţiunii antitumorale, au fost investigate pe scară largă. Doxorubicin-ul inhibă producţia de Ac şi, în unele cazuri, imunitatea mediată celular, dependentă de LyT, dar are o acţiune mai slabă asupra acestor răspunsuri imune decât medicamentele înrudite, cum ar fi Daunorubicin-ul, care are însă o acţiune antitumorală mai slabă decât Doxorubicin-ul.

Doxorubicin-ul nu inhibă funcţia macrofagului (spre deosebire de Daunorubicin) şi nici activitatea celulelor NK (spre deosebire de Ciclofosfamidă). După administrarea de Doxorubicin, unele funcţii ale macrofagelor (de exmplu, fagocitoza şi citotoxicitatea tumorală) sunt stimulate. De asemenea, macrofagele pot servi ca un depozit pentru medicament şi, în anumite condiţii, medicamentul transportat de către fagocitele mononucleare este responsabil de creşterea reactivităţii antitumorale a acestor celule. Se metabolizează în ficat, prin reducerea şi hidroliza substituenţilor lanţului. Metabolitul activ este o formă alcoolică, în timp ce agliconul este inactiv. Cea mai mare parte a medicamentului şi metaboliţii săi sunt excretaţi în bilă şi aproximativ 1/6 sunt excretaţi în urină. Calea biliară a excreţiei include ciclul enterohepatic. La pacienţii cu niveluri iniţiale crescute de bilirubină (mai mari de 2,5 mg/dl), doza iniţială de Antracicline ar trebui scăzută cu 75%.

Indicaţiile Antraciclinelor sunt:

- carcinoame de sân, carcinoame de ovar, carcinoame de testicul;
- carcinoame de tiroidă;
- carcinoame de plămân;
- sarcoame, inclusiv neuroblastoame, osteosarcoame, rabdomiosarcoame;
- neoplazii hematologice, limfoame (Hodgkin şi nehodgkiniene).

Se utilizează în asociere cu Ciclofosfamidă, Cisplatin, Nitrozuree, cu care prezintă acţiune sinergică.

În clinică sunt utilizaţi următorii analogi ai Antraciclinelor:

* Aclacinomicina A;
* 4-epiadriamicin;
* 4-deoxidoxorubicin;
* 4-demetoxidaunorubicin.

Reacţiile adverse constau în depresie medulară.

Antraciclinele se administrează numai pe cale intravenoasă. Concentraţia maximă scade cu 50% în primele 30 minute după injectare, dar nivelurile semnificative persistă mai mult de 20 de ore.

Scanned with OKEN Scanner

Dactinomicinele (Actinomicin D®) se leagă la dublul helix al ADN prin intercalare între perechile de baze guanină-citozină. Inhibă toate sintezele ARN,ADN-dependente. Se administrează i.v., în doze de 0,04 mg/kgc/săptămână. Timpul de înjumătățire este scurt.

Se **indică** în tumorile Wilms.

Prezintă urmatoarele **efecte adverse**:

- deprimarea măduvei hematopoietice;
- leziuni cutanate (inflamație, erupții);
- grețuri, vărsături, diaree;
- ulcerații ale mucoasei bucale;
- alopecie.

• ***HORMONII STEROIZI*** sunt secretați de corticosuprarenale. Ei sunt clasificați în glucocorticoizi (care prezintă pronunțate efecte asupra metabolismului carbohidraților şi asupra metabolismului proteic, precum şi intense acțiuni antiinflamatorii), mineralocorticoizi (care prezintă o importanță deosebită în menținerea echilibrului hidroelectrolitic al organismului) şi hormoni sexuali. Dintre hormonii secretați de corticosuprarenală, prezintă implicații imunofarmacologice doar glucocorticoizii [30, 49, 50, 60, 81, 122, 123, 135, 148, 192, 207, 219, 235, 236, 252].

Glucocorticosteroizii naturali sunt cortisolul (hidrocortizonul) şi cortizonul (la om), iar corticosteronul este important la şobolani. Cortisolul are cea mai puternică acțiune şi constituie aproximativ 90% din corticosteroizii corticosuprarenalei, la om. Nivelurile plasmatice ale cortisolului sunt de 4-16 microg/100 ml şi prezintă variații diurne, atingând cele mai mari concentrații la orele 8 a.m. şi cele mai scăzute concentrații la orele 4 p.m. Deşi în condiții normale, nivelurile plasmatice fiziologice exercită o acțiune antiinflamatorie puternică, când glucocorticosteroizii sunt utilizați terapeutic, este necesară realizarea unui nivel plasmatic de aproximativ 100 microg/100 ml, pentru a produce efecte benefice şi de lungă durată.

Glucocorticosteroizii nu circulă în organism în formă liberă. Plasma sanguină conține o CBG, care, împreună cu albumina plasmatică, leagă aproximativ 90% din totalul glucocorticosteroizilor plasmatici. Unele leucocite prezintă receptori pentru CBG şi, deoarece această globulină prezintă o structură asemănătoare cu aceea a inhibitorilor de proteaze serice, proteina este "atacată" de unele proteaze aflate la locul inflamației. Dacă CBG este clivată, ea eliberează cortison, crescând astfel concentrația locală

Scanned with OKEN Scanner

de hormoni liberi. S-a emis ipoteza că acest mecanism reprezintă un sistem endogen de "medicament eliberator", care ajută la supresia inflamației.

Glucocorticosteroizii nu sunt preformați și depozitați, ci sunt sintetizați și eliberați când celulele corticosuprarenalei sunt stimulate de ACTH, hormon peptidic produs în hipofiza anterioară. Eliberarea corticotrofinei este reglată de CRF și, probabil, și de alți factori hipotalamici. Glucocorticosteroizii au un efect de feed-back negativ asupra eliberării, atât a ACTH, cât și a CRF.

Efectele golucocorticosteroizilor pot fi clasificate în două categorii:

- efecte antiinflamatorii și imunosupresive;
- efecte metabolice, acțiuni de feed-back negativ pe hipotalamus și hipofiza anterioară și alte efecte.

Când glucocorticosteroizii sunt eliberați "in vivo", în mod fiziologic, toate aceste acțiuni sunt esențiale pentru supraviețuire, în special în interrelațiile organismului cu mediul înconjurător, dar și cu cel intern (de exemplu, în timpul sarcinii). Când glucocorticosteroizii sunt utilizați ca terapie de substituție, în cazurile unor insuficiențe funcționale ale corticosuprarenalei, toate aceste acțiuni sunt necesare. Atunci când, însă, glucocorticosteroizii sunt folosiți ca medicamente antiinflamatorii, toate efectele, altele decât cele antiinflamatorii (inclusiv cele imunosupresive) pot deveni efecte adverse.

Relativ recent a fost emisă o ipoteză care încearcă să unifice toate acțiunile biologice ale glucocorticosteroizilor în situații patologice. Această ipoteză, propusă de Munck A. și colaboratorii săi, în 1984, sugerează că, glucocorticosteroizii sunt secretați pentru a inhiba "mecanismele de apărare" ale organismului uman "scăpate" de sub control datorită unor boli, readucând, astfel, homeostazia între limitele normale [citați bibl. 50]. Prin "mecanisme de apărare", Munck înțelege răspunsurile organismului la agresiuni și boli, cum ar fi: inflamația, febra, durerea, etc. În alte lucrări de specialitate, glucocorticosteroizii sunt considerați ca făcând parte dintre mecanismele reglatorii, care acționează în controlul inflamației și care sunt foarte active la mamiferul sănătos. Când se tratează pacienții cu steroizi exogeni, se realizează o creștere puternică a gradului de inhibare hormonală a acestor mecanisme reglatorii.

Glucocorticosteroizii determină următoarele **efecte farmacodinamice**:

a) efecte metabolice:

- metabolismul carbohidraților: diminuă captarea glucozei și utilizarea ei în periferie, cresc gluconeogeneza și depunerea glicogenului în ficat;

Scanned with OKEN Scanner

- metabolismul lipidic: stimulează lipoliza şi cresc nivelurile de acizi graşi liberi, un efect opus celui determinat de creşterea eliberării de Insulină, cresc depunerile de lipide la nivelul trunchiului şi în ariile faciale;
- metabolismul proteic: inhibă sintezele şi cresc distrugerile proteice în multe ţesuturi, conducând spre o balanţă azotată negativă, inhibă sintezele de ADN în majoritatea ţesuturilor;
- metabolismul hidro-electrolitic: pot creşte retenţia de sodiu şi eliminarea de potasiu, independent de acţiunea mineralocorticoizilor, cresc filtrarea glomerulară;
- metabolismul osului şi al calciului: scad absorbţia intestinală de calciu, scad reabsorbţia renală a calciului şi fosfatului, determinând hipercalciurie, inhibă funcţia osteoblastelor.

b) efecte antiinflamatorii şi imunosupresive:
- reducerea sintezei sau acţiunii unor mediatori ai inflamaţiei: IFN, IL-1, IL-2, substanţele stimulatoare ale celulelor NK, prostaglandinele, leucotrienele, bradikinina, factorul activator plachetar, histamina, proteazele neutre, fosfolipazele secretorii, oxidul nitric;
- inhibă sinteza de IL5 [252];
- modificarea ratei de sinteză proteică în limfocite şi anticorpi;
- influenţarea negativă a circulaţiei şi recirculaţiei LyT;
- diminuarea procesului imun celular în focarul inflamator;
- neutrofilie, monocitopenie, limfopenie (CD4>CD8; LyT>LyB);
- inhibarea refacerii şi funcţiei monocitelor;
- inhibarea funcţiei celulelor NK;
- inhibarea exprimării genei şi producţiei de citokine;
- previn desensibilizarea receptorilor β2-adrenergici şi cresc exprimarea acestora [252].

În general, LyT sunt mai sensibile decât LyB la acţiunea glucocorticosteroizilor. LyT, în special LyTh, suferă o depleţie din circulaţie, în procent mai mare decât LyB. Aceste fenomene sunt maxime la 6 ore de la administrarea glucocorticoizilor şi se remit la 24 de ore de la încetarea administrării. Un fenomen similar se observă şi după administrarea cronică de glucocorticoizi.

Limfopenia rezultată se pare că este datorată redistribuirii circulaţiei limfocitelor spre alte compartimente limfocitare (în particular, în măduva osoasă) şi nu lizei limfocitelor.

Mecanismul molecular de acţiune al glucocorticoseroizilor constă în influenţarea transcripţiei genelor. Receptorii celulari specifici intracitoplasmatici pentru hormonii glucocorticosteroizi se găsesc în toate

Scanned with OKEN Scanner

țesuturile dependente de glucocorticosteroizi, inclusiv în limfocitele umane. Aparent nu există o corelație între numărul receptorilor celulari și sensibilitatea lor la glucocorticosteroizi. După penetrarea prin membrană, se leagă de o proteină specifică, iar complexul receptor celular-hormon parcurge o etapă de activare. Acest complex se leagă atât la ADN, cât și la proteina cromatinică, legarea de cromatină crescând afinitatea interacțiunii cu ADN. Complexul, acumulat în nucleu, inițiază transcripția ADN și, astfel, apar noi ARNm, care ajung la nivelul ribozomilor și servesc drept suport pentru sinteza de noi proteine.

Glucocorticosteroizii inhibă două căi ale metabolismului acidului arahidonic (căile lipo- și ciclooxigenazei). Inhibitorii sintezei ARN și ai proteinelor blochează efectul glucocorticosteroizilor ceea ce a condus la ipoteza că steroizii induc sinteza unui inhibitor pentru eliberarea acidului arahidonic. Acest inhibitor este o proteină, macrocortina, care inhibă selectiv fosfolipaza A_2 din membranele celulare, enzimă ce eliberează acidul arahidonic din fosfolipide. Prin inhibarea lipomodulinei, glucocorticosteroizii previn biosinteza eicosanoizilor proinflamatori, incluzând PG și LT. Lipomodulina inhibă sinteza în celule NK și efectele citotoxice ale acestor celule. Produsele lipooxigenazei proliferează răspunsul timocitelor la IL-1 și acidul arahidonic, iar câțiva produși ai lipooxigenazei sunt mesageri secunzi pentru producția IFN în splenocite.

S-au evidențiat autoanticorpi contra lipomodulinei în serul pacienților cu artrită reumatoidă și LES, ceea ce sugerează că Ac specifici contra lipomodulinei cresc metabolismul acidului arahidonic cu formarea produșilor săi cu rol în inflamație și pot, în parte, justifica eficiența glucocorticosteroizilor în tratamentul acestor boli.

Glucocorticosteroizii prezintă următoarele **indicații**:

- terapie de substituție în: boala Addison, insuficiența hipofizară, sindromul adreno-genital;
- terapie cu doze mari, suprafiziologice în:
- colagenoze: artrita reumatoidă, reumatism articular acut, polimiozită, lupus eritematos sistemic, colită ulceroasă, periarterita nodoasă;
- afecțiuni alergice: trombocitopenii, anemii hemolitice, reacții medicamentoase, astm bronșic, dermatite de contact, șoc anafilactic etc;
- diferite inflamații: inflamații acute oculare, bursite, leziuni posttraumatice, edem cerebral etc;
- afecțiuni ale pielii: pemfigus vulgar, psoriazis, mycosis fungoides, eczeme etc;
- criza acută de gută;
- unele nefroze;

Scanned with OKEN Scanner

- şoc (doze foarte mari, în şocul cardiogen şi în şocul endotoxinic);
- unele neoplasme: leucemii acute, mielom multiplu, limfosarcoame, leucemie limfocitară cronică, sarcoidoză.

Hormonii glucocorticosteroizi sunt utili în special în boli în care perioadele active alternează cu perioadele de remisiune şi în care nu trebuie administraţi continuu timp îndelungat, ca şi în bolile în care pot fi administraţi local [148].

La oprirea terapiei manifestările bolii pot reapare, chiar exacerbate. Atrofia corticosuprarenalei, provocată de orice tratament mai îndelungat, este un risc adiţional important. Totuşi, hormonii glucocorticosteroizi rămân o medicaţie de mare importanţă, fiind deseori singura soluţie pentru supravеţuire sau pentru evitarea unor invalidităţi grave.

Contraindicaţiile administrării hormonilor glucocorticosteroizi sunt următoarele:

- ulcer peptic
- diabet zaharat
- osteoporoză
- hipertensiune cu insuficienţă cardiacă
- infecţii (leziuni corneene herpetice)
- glaucom
- psihoze.

Glucocorticosteroizii prezintă următoarele **efecte adverse**:

a) efecte adverse comune, care pot fi întâlnite la majoritatea pacienţilor:

- echilibru calcic negativ, conducând spre osteoporoză;
- stimularea apetitului, obezitate de tip centripet;
- întârziere în vindecarea unor afecţiuni;
- creşterea riscului la infecţii;
- supresia axei hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliene;
- oprirea creşterii la copii.

b) efecte adverse frecvente:

- miopatii;
- necroze avasculare;
- hipertensiune arterială;
- piele subţiată, "fragilă", striaţii cutanate, purpură;
- edeme secundare retenţiei de sodiu şi apă;
- hiperlipidemie;
- simptome psihiatrice, în special euforie sau depresie;
- diabet zaharat;
- cataracte subcapsulare posterioare.

Scanned with OKEN Scanner

c) efecte adverse mai puţin frecvente, dar care trebuie depistate precoce:

- glaucom;
- hipertensiune intracraniană benignă;
- perforaţie intestinală "silenţioasă";
- boală ulceroasă peptică (adesea gastrică);
- alcaloză hipokaliemică;
- comă hiperosmolară fără corpi cetonici;
- hemoragie gastrică.

d) efecte adverse foarte rare:

- pancreatite;
- hirsutism;
- paniculite;
- amenoree secundară;
- impotenţă sexuală;
- lipomatoză epidurală;
- alergie la steroizii sintetici.

Hormonii naturali sunt utilizaţi în prezent, în măsură mult mai mică decât analogii lor sintetici. Unii analogi (Prednisolon, 6-metil-prednisolon, Triamcinolon, Betametazon, Dexametazon, ş.a.) au forme de condiţionare pentru terapie sistemică şi locală (injectare periarticulară, peritendinoasă, aerosoli ş.a.).

Alţi analogi, ca Fluocinolonul, Pivalatul de flumethason, sunt destinaţi terapiei locale în boli de piele cu etiologie alergică. Ei au acţiune locală foarte puternică, fără a avea practic efecte sistemice.

Beclamethasonul (Vanceril®, Becotide®) este condiţionat sub formă de aerosoli, având efecte sistemice reduse (indicat în terapia astmului bronşic infecto-alergic).

Deflazacort (DFC) este un GCS heterociclic folosit în tratamentul artritei reumatoide. Scade activitatea proliferativă a limfocitelor în reacţiile mixte autologe (MLR, precum şi exprimarea Ag HLA de clasă II pe LyT [81

Între diferiţii produşi cortizonici există următoarele echivalenţe privind dozele:

40 mg Cortisol = 10 mg Prednison/Prednisolon = 8 mg Metil-Prednisolon/Triamcinolon = 2 mg Dexametazon = 1,5 mg Betametazon.

Scanned with OKEN Scanner

Redăm mai jos relaţia între timpul de înjumătăţire şi puterea relativă de acţiune la principalele preparate cortizonice utilizate în terapie (tabel 1):

Parametri urmăriţi	GLUCOCORTICOSTEROIZII					
	I	II	III	IV	V	VI
Timp de înjumătăţire (minute)	80-120	80-120	200-210	120-300	180-240	150-270
Puterea relativă a glucocortico-steroizilor	1,0	0,8	4,0	5,0	5,0	30-150
Mineralocorticoizii	1,0	0,8	0,8	0	0	0

Tabel 1. Relaţia între timpul de înjumătăţire şi puterea relativă de acţiune la derivaţii GCS şi ai mineralocorticoizilor

(Schemă modificată, după James S. Goodwin, MD, 1994, citat bibl. 235)

Legendă:
I - Cortizol
II - Cortizon
III - Prednison
IV - Prednisolon
V - Triamcinolon
VI - Dexametazon.

În concluzie, glucocorticosteroizii au efecte importante asupra RI la om, dar folosirea lor clinică este limitată de efectele secundare, datorate dozelor mari sau tratamentului îndelungat.

GCS, AINS, mai rar, antireumaticele modificatoare ale bolii sunt indicate, cu efecte benefice, în tratamentul sindromului Overlap. Sindromul Overlap este un "sindrom de suprapunere" [252]:

- LES/PR (1 % din bolnavii cu LES);
- SSP/DM (12 %);
- LES/PM (10 %);
- LES/SSP (mai dificil de evaluat).

Acest sindrom este o boală mixtă a ţesutului conjunctiv, descrisă de Sharp şi colab., în 1972, citaţi de G. Ungureanu şi colab., 2000 [252]. Este un sindrom reumatismal aparent distinct, asociat cu Ac specifici anti-nRNP (nuclear ribonuclear protein).

Scanned with OKEN Scanner

• ***ANTICORPII ŞI COMPLEXELE IMUNE CIRCULANTE*** produc, indiferent de specificitatea faţă de un anumit Ag, efecte de inhibare a sintezei de alţi Ac.

• ***GAMA GLOBULINA*** conţine anticorpi specifici orientaţi împotriva Ag superficiale ale unui virus dat [122, 123, 148, 235, 252]. Astfel, ea poate interfera cu intrarea acestei particule virale în celulă, probabil, prin blocarea penetrării şi mai puţin prin împiedicarea adsorbţiei virusului.

Administrarea intramusculară a unei doze de 0,025 - 0,25 ml/kg corp, din gama globulină sub forma preparatului Immune globulin® U.S.P., la începutul perioadei de incubaţie, poate modifica infecţiile cu următoarele tipuri de virusuri: virusul rujeolei, virusul hepatitei, virusul rabiei, al poliomielitei şi altele. Replicarea virală este adesea numai parţial inhibată, astfel încât protecţia temporară pasivă oferită de gama globulină este însoţită de dezvoltarea unei imunităţi active, rezultând o imunizare activă–pasivă.

Au fost preparate globuline imune intravenoase, pentru cazurile în care administrarea intramusculară nu este recomandată. De asemenea, există globuline hiperimune speciale (concentrate din plasma persoanelor cu niveluri crescute de Ac), care pot fi administrate ca terapie specifică în cazurile de: rabie, vaccină, varicella-zoster, hepatită B, boala Rh.

Gama globulina, în doze mari, este utilizată cu succes, ca agent imunosupresor, în terapia purpurei trombocitopenice idiopatice.

Preparatele disponibile cu gama globulină sunt reprezentate de:

* Immune globulin intravenous sau IGIV (Gamimmune N®): este condiţionată sub formă de fiole de 10, 50 şi 100 ml, conţinând o soluţie concentrată de 5% şi sub formă de flacoane conţinând 0,5; 1; 2,5; 3; 5 şi 6 g pulbere pentru prepararea de soluţie injectabilă.

Dozele variază în funcţie de gravitatea bolii şi corespunzător greutăţii corporale, fiind cuprinse între 1 g şi 5 g gama globulină. În raport cu gravitatea bolii, doza administrată se poate repeta. Administrarea se face intravenos, prin perfuzie lentă, sub supraveghere medicală.

Este indicată, împreună cu antibioticele corespunzătoare, în septicemii grave, starea de şoc septic, infecţii bacteriene acute sau cronice, înaintea unor intervenţii chirurgicale.

* Gamaglobulina pentru administrare intravenoasă, produs al Institutului Cantacuzino Bucureşti, este condiţionată sub formă de fiole conţinând 0,5 g gamaglobulină umană în 10 ml soluţie şi sub formă de flacoane cu 1 g gamaglobulină umană. Indicaţiile şi schema de administrare sunt similare cu cele ale produsului Gamimmune N.

Scanned with OKEN Scanner

* Gamaglobulina umană de origine placentară, produs al Institutului Cantacuzino Bucureşti, este condiţionată sub formă de fiole de 2 ml conţinând gama globulină, care este o fracţiune proteică obţinută din sânge placentar şi retroplacentar. Soluţia finală conţine 10 sau 16 g% proteină cu puritate de 94-100% în gama globulină.

Conferă imunitate pasivă în infecţiile virale şi microbiene.

Este indicată în: rujeolă, rubeolă, hepatită epidemică, poliomielită, infecţii microbiene cu pneumococ, streptococ, stafilococ, agamaglobulinemii şi hipogamaglobulinemie.

Dozele variază în funcţie de afecţiune şi greutate corporală, fiind cuprinse între 0,05 ml/kg corp - 1 ml/kg corp. Administrarea se face pe cale intramusculară.

• ***ALFA-FETOPROTEINA*** este o alfa-globulină care se găseşte în concentraţii mari la făt şi în concentraţii minime la adultul sănătos [122, 123, 148]. La persoanele cu cancer concentraţia creşte până la valori mari, ceea ce contribuie, în mare măsură, la realizarea statusului imunodeficitar la bolnavii neoplazici.

Alfa-fetoproteina acţionează la diferite niveluri ale imunităţii prin:

- producerea dezechilibrului Th/Ts, în favoarea Ts;
- blocarea receptorilor limfocitari pentru recunoaşterea Ag;
- inhibarea funcţiilor macrofagelor;
- reducerea nivelului citotoxicităţii naturale prin NK.

• ***PROSTAGLANDINELE ŞI LEUCOTRIENELE***. Rolul cel mai important în imunomodulare îl au PGE_2, care inhibă atât funcţia, cât şi proliferarea LyT (LyTc, LyT helper şi LyT suppressor). Uneori însă, în anumite circumstanţe, PGE_2 pot stimula activitatea LyT [21, 24, 30, 50, 122, 123, 148, 270, 275].

LyB, celulele NK şi macrofagele constituie, de asemenea, subiectul efectelor duale inhibitorii/excitatorii ale PGE_2. În realizarea acestor efecte sunt implicaţi receptorii EP, dar nu se cunoaşte cu certitudine care subtip: EP_1, EP_2 sau EP_3.

În diferite tipuri de inflamaţii cronice, de exemplu, în artrita reumatoidă, există distrugeri substanţiale de os şi cartilaj, ca factori cauzali fiind implicate PGE_2 şi, posibil, PGI_2. Nu se cunoaşte cu certitudine dacă efectele fiecăreia dintre aceste PG sunt în întregime patologice şi este posibil ca prostanoizii să constituie mediatorii cheie ai turnover-ului osos

Scanned with OKEN Scanner

normal. Aceste efecte sunt probabil asociate cu creşterea concentraţiei de AMP ciclic intracelular, implicând receptori EP_2 şi IP.

Prostanoizii, în special tipul E, sunt asociaţi cu febra, aceasta fiind un efect secundar comun al PGE_2 şi al analogilor săi strâns înrudiţi. Sulprostan-ul, agonist selectiv pe receptorii EP_1/EP_2 nu produce pirexie la om, ceea ce sugerează că sunt implicaţi în mecanismul febrei doar receptorii EP_2.

În funcţionalitatea limfocitului, PGE_2 stimulează creşterea AMPc (substanţele anti-PGE_2 scad AMPc intracelular). PG sunt eliberate din limfocitele activate neaderente ("nonadherent lymphocytes" = NAL). Ele stimulează alte limfocite supresoare ("glass adherent lymphocytes" = GAL), care eliberează un factor peptidic cu greutate moleculară mică şi cu rol în inhibarea celulelor activate. De asemenea, PGE_2 blochează degranularea mastocitelor, în timp ce PGE_{2alfa} stimulează degranularea mastocitelor. PGE_2 inhibă celulele NK.

PGF stimulează eliberarea de citokine de către celulele fagocitare mononucleare.

PG stimulează funcţia fagocitară a macrofagelor.

Leucotrienele B_4 induc activitatea LyTs umane şi cresc producţia de IL-1 din mastocite, macrofage şi neutrofile.

Se pare că eicosanoizii, alături de PAF şi de corticosteroizi, pot modula interacţiunile dintre macrofag şi limfocit, în realizarea răspunsului imun (Fig. 6).

Corticosteroizii, PGE_2 şi, posibil, PGI_2 inhibă exprimarea genei IL-1 şi efectele sale pe LyT. PAF, LTB_4 şi LTD_4 stimulează exprimarea genei IL-1. Efecte similare inhibitorii şi stimulatorii sunt exercitate asupra acţiunii IFNγ, asupra macrofagului şi asupra IL-2.

Activitatea antitumorală a macrofagelor este invers corelată cu producţia de PGE_2 şi direct corelată cu producţia de leucotriene (LTC_4 şi LTD_4). Astfel, Indometacinul (inhibitor al COX, deci, inhibitor al producţiei de PGE_2) prezintă efecte citostatice faţă de celulele tumorale şi stimulează activitatea antitumorală a macrofagelor peritoneale umane la pacienţi cu dializă peritoneală ambulatorie continuă. Inhibitorii de leucotriene (Acidul nordihidroguaiaretic-NDGA şi compusul AA 861) blochează activitatea antitumorală a macrofagelor peritoneale umane. Astfel, compusul AA 861, inhibitor al lipoxigenazei, inhibă atât producţia de LTC4, cât şi activitatea antitumorală a macrofagelor peritoneale umane [von Hilten, Ben-Efraim, Zijlstra şi Bonta, 1990, citaţi bibl. 21].

Scanned with OKEN Scanner

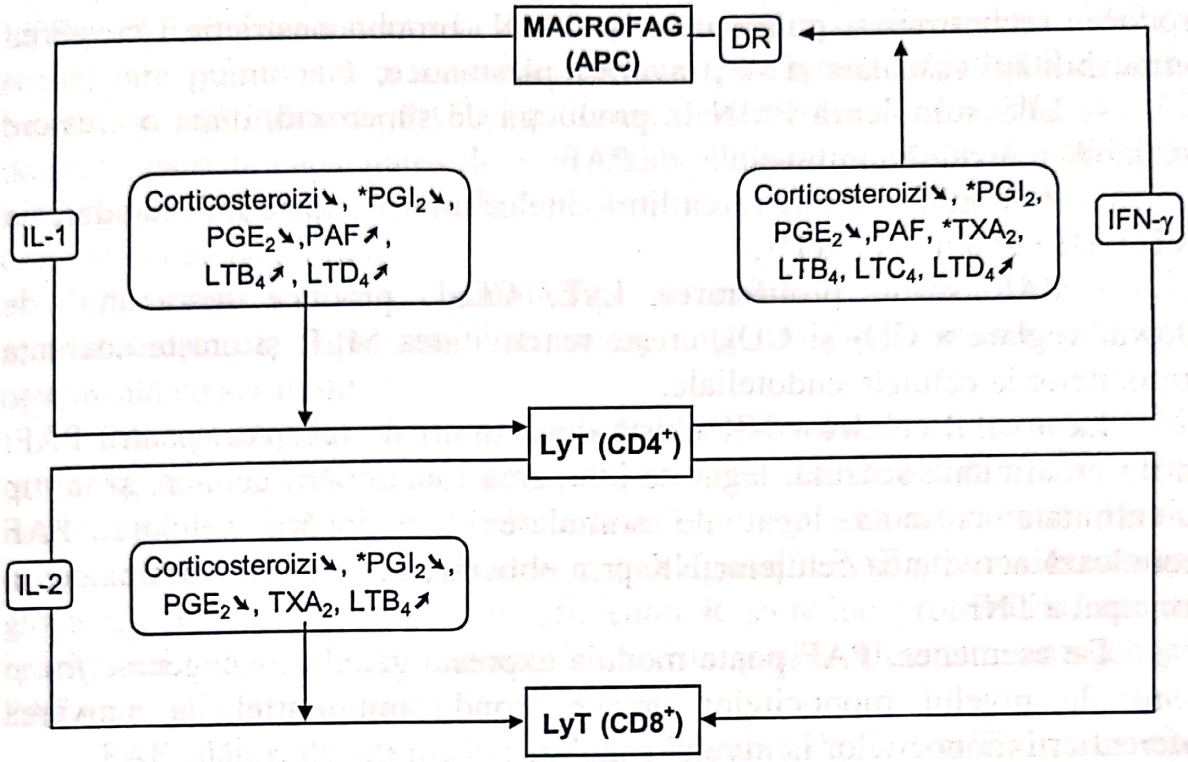


Figura 6. Modularea interacțiunii macrofag-limfocit prin intermediul eicosanoizilor, PAF şi corticosteroizilor
(Schemă modificată, după Tai-Ping D. Fan şi K. D. Rainsford, 1994, citați bibl. 50)

• ***PAF*** prezintă următoarele implicații în modularea răspunsului imun [177]:

- inhibă producerea de IL-2;
- la doze mici, PAF stimulează, iar la doze mari, scade producerea de IL-1 de către monocitele stimulate cu LPS (efectul de creştere a sintezei de IL-1 de către PAF se pare că este mediat prin generarea metaboliților lipooxigenazici ai acidului arahidonic, cel mai probabil, LTB_4);
- în concentrații de 20 M, PAF induce producerea de TNF de către monocitele umane (proces asemănător cu inducerea cu IFN a producției de TNF);
- PAF este agent chemotactic puternic pentru PMN, determinând eliberare de anioni superoxid, agregare celulară şi degranulare; *in vivo*,

Scanned with OKEN Scanner

produce sechestrarea pulmonară a PMN bronhoconstricție, creşterea permeabilității vasculare şi a extravazării plasmatice;

- LPS stimulează PMN în producția de superoxid, după o creştere prealabilă a nivelului intracelular de PAF;
- PAF inhibă proliferarea limfocitelor umane, poate induce supresia LyT, CD8+ şi a monocitelor;
- PAF scade proliferarea LyT, CD_{4+} ,produce fenomenul de "down"-reglare a CD_2 şi CD_3, creşte reactivitatea MLR şi creşte aderența limfocitelor la celulele endoteliale.

La nivelul celulelor NK există două tipuri de receptori pentru PAF: un tip cu afinitate scăzută, legat de inhibarea funcționării celulare şi un tip cu afinitate crescută legat de stimularea funcționării celulare. PAF modulează activitatea celulelor NK prin eliberarea citokinelor citotoxice, în principal a TNF.

De asemenea, PAF poate modula expresia genelor oncogene *c-fos* şi *c-myc* la nivelul monocitelor umane, conducând, astfel, la activarea diferențierii monocitelor la nivelul genelor.

PAF este un stimul direct asupra eliberării IL-1, dar acționează mai puternic în acest sens în calitate de costimulator, în combinațiile sale cu IFN, TNF sau endotoxina.

Sinteza rapidă a PAF după stimularea celulară se produce pe calea "remodelării", iar eliberarea susținută apare prin sinteza "de novo".

PAF este chemoatractant şi pentru monocite şi eozinofile, recrutând, astfel, PMN şi aceste celule la nivelul leziunii tisulare. La rândul lor, citokinele vor stimula ulterior sinteza de PAF. Acest *feedback pozitiv* poate fi esențial pentru amplificarea imediată a răspunsului imun, dar poate determina leziuni tisulare dacă eliberarea acestor mediatori ai inflamației scapă de sub control. Mecanismele care reglează feedback-ul sunt incomplet cunoscute, fiind clasificate în 3 grupe:

a) metabolismul rapid al PAF, IL-1 şi TNF;
b) antagonismul citokinelor în stimularea sintezei de PAF;
c) inhibarea directă a funcțiilor, sintezei şi eliberării de PAF şi a citokinelor.

Sinteza de PAF şi a citokinelor este inhibată de către calmodulină şi inhibitorii proteinkinazei C. PGE_2, produsă de monocite, inhibă eliberarea citokinelor de către aceste celule, fiind un veritabil inhibitor endogen al ansei de feedback.

De asemenea, s-a demonstrat experimental că PAF este generat împreună cu IL-4, în timpul stimulării Ag a mastocitelor de şoarece, derivate din măduvă. PAF poate induce sinteza LT în fagocite şi, în special,

Scanned with OKEN Scanner

LTB_4. PAF este un puternic activator al plachetelor *in vitro* şi va induce o sechestrare pulmonară a acestora. Depleţia plachetară selectivă va inhiba hiperrăspunsul indus de PAF şi infiltrarea eozinofilelor. Heparina şi MPZ derivate, care au capacitatea de a neutraliza factorul plachetar 4, vor inhiba hiperrăspunsul bronşic indus de PAF şi infiltrarea eozinofilelor la modelele experimentate pe animale.

Pe lângă efectele chemotactice eozinofilice şi neutrofilice, PAF induce creşterea capacităţii citotoxice faţă de *Schistosoma mansoni*, opsonizată cu ser imun.

PAF poate acţiona sinergic cu alte citokine proinflamatorii (de exemplu, IL-1 şi TNF), în producerea nefrozei experimentale. În nefrita nefrotoxică, un model de boală mediată de Ac anti-membrană bazală, dependentă de complement şi leucocite, antagoniştii PAF previn dezvoltarea glomerulonefritei severe şi a insuficienţei R şi reduc proteinuria, dar nu previn activarea complementului. În nefrita pasivă Heyman, antagoniştii PAF nu previn proteinuria.

PAF, alături de alţi mediatori lipidici, alături de IL-1 şi TNF, participă activ la patogeneza artritei reumatoide. Produsul BN 52021 (un antagonist al PAF) împiedică apariţia semnelor histologice şi clinice de inflamaţie, în artrita indusă experimental cu ovalbumină la iepure.

PAF este implicat şi în alte boli imunologice, cum ar fi, scleroza multiplă.

Pe lângă efectul chemotactic faţă de eozinofile şi macrofage, PAF este capabil să moduleze expresia Ag de clasă I şi II MHC, la nivelul astrocitelor şi al altor celule ale SNC, cu rol important în prezentarea Ag şi recunoaşterea de către celulele inflamatorii "invadatoare". PAF este citotoxic faţă de neuroni şi poate fi implicat în moartea neuronală ireversibilă asociată cu leziunile măduvei şi traumatismele. De asemenea, PAF poate modula RI prin reglarea raportului LyTh/LyTs.

PAF este un puternic mediator al anafilaxiei şi inflamaţiei. O gamă variată de celule inflamatorii produc PAF: PMN, eozinofile, monocite, macrofage, plachete, celule endoteliale şi limfocite, constituind în acelaşi timp ţinte pentru PAF.

PAF este implicat în mecanismul inflamaţiei acute prin:

a. stimularea sintezei altor mediatori ai inflamaţiei;
b. creşterea permeabilităţii vasculare;
c. producerea de microtrombi vasculari;
d. stimularea chemotactismului leucocitar în focarul inflamator;
e. creşterea extravazării neutrofilelor;
f. influenţarea unor funcţii ale neutrofilelor;

Scanned with OKEN Scanner

g. creşterea formării de radicali liberi;
h. implicaţii în regenerarea tisulară.

Apare ideea că antagoniştii PAF reprezintă o nouă grupă de AINS, analgezice, dar nu şi antipiretice.

Se poate încerca o clasificare a AINS în funcţie de mecanismele lor de acţiune, astfel [177]:

1. inhibitori de ciclooxigenază – medicamentele antiinflamatoare nesteroidale larg utilizate (aspirin-like);
2. inhibitori de tromboxanisintetază (dezoxiben-ul);
3. inhibitori de lipooxigenază (de exemplu, nafazatron);
4. inhibitori de ciclooxigenază şi lipooxigenază (de exemplu, acidul nordihidroguairetic);
5. antagonişti la nivel de receptor ai PAF-ului.

Antagonişti competitivi ai PAF-ului pot fi clasificaţi astfel [177]:

a) Analogi semisintetici sau sintetici ai PAF-ului cu catena neciclică:

- CV-3988 [Takeda, 1983, citaţi bibl. 177; Terashida şi colab. arată acţiunea de antagonism al PAF-ului pe care o prezintă acest compus cu acţiune antifungică, citaţi bibl. 177]
- ONO-6240 [Miyamoto şi colab. 1985, citaţi bibl. 177] se obţine prin înlocuirea fosforilcolinei cu CV-3988 cu gruparea heptametilen tiazolium la C_3
- RO-191400
- RO-188736 (realizaţi de Hoffman La Roche 1984-1985)
- RO-187953
- SRI 63-119 (realizaţi de Sandoz)
- SRI 63-072
- analogi Amidofosfonati [Steiner şi colab., 1985, citaţi bibl. 177]
- RU 45703 – Hoechst – Roussel [Wickrowski şi colab., 1986, citaţi bibl. 177]

b) Analogi sintetici sau semisintetici ai PAF-ului cu structură ciclizată şi acţiune de antagonişti ai PAF-ului.

- SRI 63-073 (un derivat piperidinic) [Lee şi colab. 1983, citaţi bibl. 177]
- Dioxanona (Hoffman La Roche).

Caracteristici:

- absorbţie orală bună;
- o slabă acţiune de agonist parţial;
- un antagonist mai slab decât al analogilor cu catena neciclică.

Antagonişti ce nu sunt analogi de PAF

Scanned with OKEN Scanner

A. *Naturali*

a) Lignani şi neo-lignani (formaţi din dimerizarea hidroxilalkiloxifenilpropanului)

Lignani – dimerizare în carbonii din poziţia B neo-lignani – dimerizare la alţi atomi de carbon decât cei din poziţia B

- Kadsurenona (un neo-lignan izolat din Piper futokadsurae, o plantă din sudul Chinei)
- Burseranul (izolat din Burcera mycrophylla)
- Guiacina (izolată din Guiacum officinale)
- Nectandrina A (BN 52021)
- Nectandrina B (BN 52011)
- Magnosalicina (BN 52004) izolat din Magnolia saliciphia
- derivaţi sintetici ai lignanilor
- Dinortetrahidrofuran lignanul (notat L-652731) [Hwang şi colab. 1985, citaţi bibl. 177]
- L-653150
- Enterolactone (identificate în urina mamiferelor)

b) Terpenoizi

- Ginkgolidele (din Ginkgo biloba) A – BN 52020
  B – BN 52021
  C – BN 52022
  M – BN 52023
- Ginkgolida B este cea mai eficientă: $IC_{50} = 10^7$;
- Ginkgolida C este mai puţin activă: $IC_{50} = 2{,}1 \times 10^6$.

c) Gliotoxine izolate (de compania Fusijawa Pharmaceutical) din fungi sau bacterii, cum ar fi:

- Streptomyces phacofaciens
- Gliocladium delquescen
- Penicillium terlikowsuku

Exemple: FR-900452 (S. phacofaciens)
FR-49175 (P. terlikowsuku)

B. *Sintetici*

- Triazolobenzodiazepine
  - Alprazolam
  - Triazolam
  - Lerotizolam

S-au determinat şi condiţiile necesare de a fi îndeplinite pentru ca o substanţă să fie antagonist de PAF (şi analog structural al acestuia).

Scanned with OKEN Scanner

Faptul că hetrazepinele antagonizează acţiunile PAF-ului, are, de asemenea, numeroase implicaţii teoretice şi practice.

După cum se ştie substanţe ca alprazolamul, triazolamul, brotizolamul etc. sunt sedativ-tranchilizante moderne derivaţi din benzodiazepinele clasice şi având o arie mai largă de aplicare. În general ele au şi acţiuni anxiolitice, anticonvulsivante, miorelaxante mai intense decât benzodiazepinele mai vechi [Kuhu F. J. şi colab., 1983; Langley M. S. şi colab., 1988, citaţi bibl. 177].

Modificările structurale ale benzodiazepinelor le dau acestora o afinitate crescută faţă de receptorii benzodiazepinici centrali. În acelaşi timp în vreme ce benzodiazepinele clasice (exemplu diazepamul, trinitrazepamul) au doar o foarte slabă acţiune de antagonizare a PAF-ului, hetrazepinele sunt puternici antagonişti ai acestuia.

Alţi derivaţi benzodiazepinici cum sunt tienodiazepinele sunt, de asemenea, slabi antagonişti ai PAF.

Pe de altă parte, RO-15-1788 – o substanţă antagonistă pe receptorii benzodiazepinici (BDZ) nu influenţează acţiunea PAF-ului pe receptorii săi, dar antagonizează acţiunea brotizolamului (fără a influenţa antagonizarea PAF-ului de către brotizolam) [Casals-Stenzel J. şi colab., 1981; Weber K. H. şi colab., 1989, citaţi bibl., 177].

e) NOI AGENŢI IMUNOSUPRESORI

Au fost investigaţi noi agenţi imunosupresori, cu scopul de a obţine medicamente mai puţin toxice şi cu specificitate mai mare [81, 102, 109, 122, 123, 135, 157, 226, 235, 255].

• ***MYCOPHENOLAT MOFETIL (RS-61443)*** este un derivat semisintetic al acidului micofenolic, izolat din *Penicilium glaucum* [81, 123]. In vitro, el inhibă o serie de răspunsuri limfocitare, între care, răspunsurile amestecurilor de limfocite mitogene. Acţiunea sa la nivel molecular constă în inhibarea căilor de sinteză a purinelor. Recent, produsul a fost testat la pacienţi cu transplante de rinichi şi de ficat, cu rezultate promiţătoare în cazurile cu rejete refractare la alte terapii sau, în asociere cu Prednisonul, ca o alternativă la tratamentul cu Ciclosporină sau cu FK-506, la pacienţii care nu tolerează aceste medicamente.

• ***MIZORIBINE*** inhibă sintezele de purine şi este considerat un medicament eficient în transplantele renale. În Japonia este utilizat ca o alternativă de tratament, în locul Azathioprinei, care are un grad mai mare de toxicitate [81, 123].

Scanned with OKEN Scanner

• ***BREQUINAR SODIC*** este un inhibitor al sintezelor de pirimidine. A fost utilizat în tratamentul cancerului, iar experimentele clinice pentru utilizarea lui în transplante au început din 1992. Pe modele animale, medicamentul a determinat un foarte puternic efect imunosupresor şi s-a dovedit sinergic cu Ciclosporina [81, 123].

• ***15-DEOXYSPERGUALIN*** a fost izolat din *Bacillus laterosporus*. Are un puternic efect antimonocitic, incluzând scăderea exprimării receptorilor pentru antigene MHC şi inhibarea generării de radicali liberi [81, 123]. Are, de asemenea, efecte antilimfocitare, inhibând producţia de Ac după imunizare, ca de exemplu, generaţia LyT citotoxice, în timpul reacţiilor mixte limfocitare. Se pare că acţionează pe răspunsurile imune celulare şi umorale tardive, fiind capabil să suprime chiar răspunsul secundar în Ac.

Produsul a fost utilizat cu succes în tratamentul rejetului acut în transplantele renale. Date experimentale susţin că acest agent poate preveni dezvoltarea HAMA după terapia cu Ac monoclonali de şoarece.

• ***SIROLIMUS*** (Rapamycina) este un antibiotic macrolid, izolat din *Streptomyces hygroscopicus*, care prezintă similaritate structurală cu FK-506 [122, 123, 135, 235]. Ca şi FK-506, Rapamycina se leagă de proteinele de legare pentru FK (FKBP). Complexul format inhibă o fosfatază citoplasmatică, calcineurin. Calcineurin-ul este o enzimă necesară pentru activarea factorului de transcripţie specific pentru LyT. Acest factor de transcripţie (NF-AT) este implicat în sintezele de interleukine prin activarea LyT. (Prin legarea la ciclofilin, Ciclosporina formează un complex care inhibă aceeaşi enzimă, Calcineurin, ca şi Rapamycina).

Cu toate acestea, Rapamycina nu blochează producţia de IL de către LyT activate, dar blochează răspunsul LyT la citokine. In vitro, acest produs inhibă răspunsurile LyT la FK-506, dar se pare că el este sinergic cu Ciclosporina. În experimentele pe animale, Rapamycina, singură sau în asociere cu alţi imunosupresori, s-a dovedit eficientă pentru prevenirea rejetului în allografele de rinichi şi cord.

• ***TALIDOMIDA*** este un sedativ, scos din terapeutică din cauza efectelor teratogene dezastruoase. Cu toate acestea, medicamentul prezintă efecte imunomodulatorii importante, care îi conferă indicaţii terapeutice multiple: unele forme de reacţii leproide, manifestările cutanate ale LES. S-a dovedit eficient introducerea imunosupresiei la modele animale, după transplant de plămâni (putând înlocui administrarea GFS) [122, 123, 235].

Scanned with OKEN Scanner

Talidomida modifică răspunsul la Ag şi/sau mitogene al LyT, favorizând proliferarea subtipului LyTh-2 şi, mai puțin, proliferarea subtipului LyTh-1.

Acțiunea agenților imunosupresori nespecifici se manifestă, deci, la diferite niveluri ale răspunsului imun, influențând diferite componente celulare sau umorale implicate în realizarea acestuia (Fig. 7.1-7.2):

Agentul imunosupresor	Locul de acțiune
Globulina antilimfocitară şi Ac monoclonali anti-LyT	1, 2, 3
Globulina imună Rho (D)	1
Radiațiile X şi gamma	2
Ciclofosfamida Clorambucil	2 (a, b), 3 (IgG, IgM şi LyTs)
Mercaptopurina, Thioguanina, Azathioprina Fluorouracil, Cytarabina, Azacitidina, Metotrexat	2 (a, b)
AINS	1 (inhibă IL-1), 3b (stimulează LyTs)
Tenidap (CP-66 248)	1, 3b (la nivelul LyTh)
Hidroxiureea	2 (b)
Vinblastina, Vincristina, Podofilotoxina	3b (LyT-Ag reactive)
Dextranul	2 (b)
Compuşii organici cu aur	1 (APC), 3 (sintezele de Ig, LyT-citotoxice)
Sulfasalazina	3b (LyT imunomodulatoare)
Dapson	1, 2 (b)
Clorochina	1 (APC)
Colchicina	1 (APC)
Glucocorticosteroizii	2 (a, b), 3 (IL-2), 6
Alfa-fetoproteina	3b (LyT-Ag reactive, LyTh/LyTs)
PGE	3 (LyTc, LyTh, LyTs)
D-penicilamina	2 (b)
Ciclosporina Tacrolimus (FK-506)	2 (a, b), 3 (a, b)
Doxorubicin	3 (în special a)
Dactinomicin	2 (a, b), 3 (a, b)
15-deoxyspergualin	3b (la nivelul LyTc)
Sirolimus (Rapamycina)	3b
Talidomida	3b (raportul LyTh-1/LyTh-2)
Pirfenidone	1
Leflunomide (HWA 486)	3 (a, b)

Figura 7.1.

Scanned with OKEN Scanner

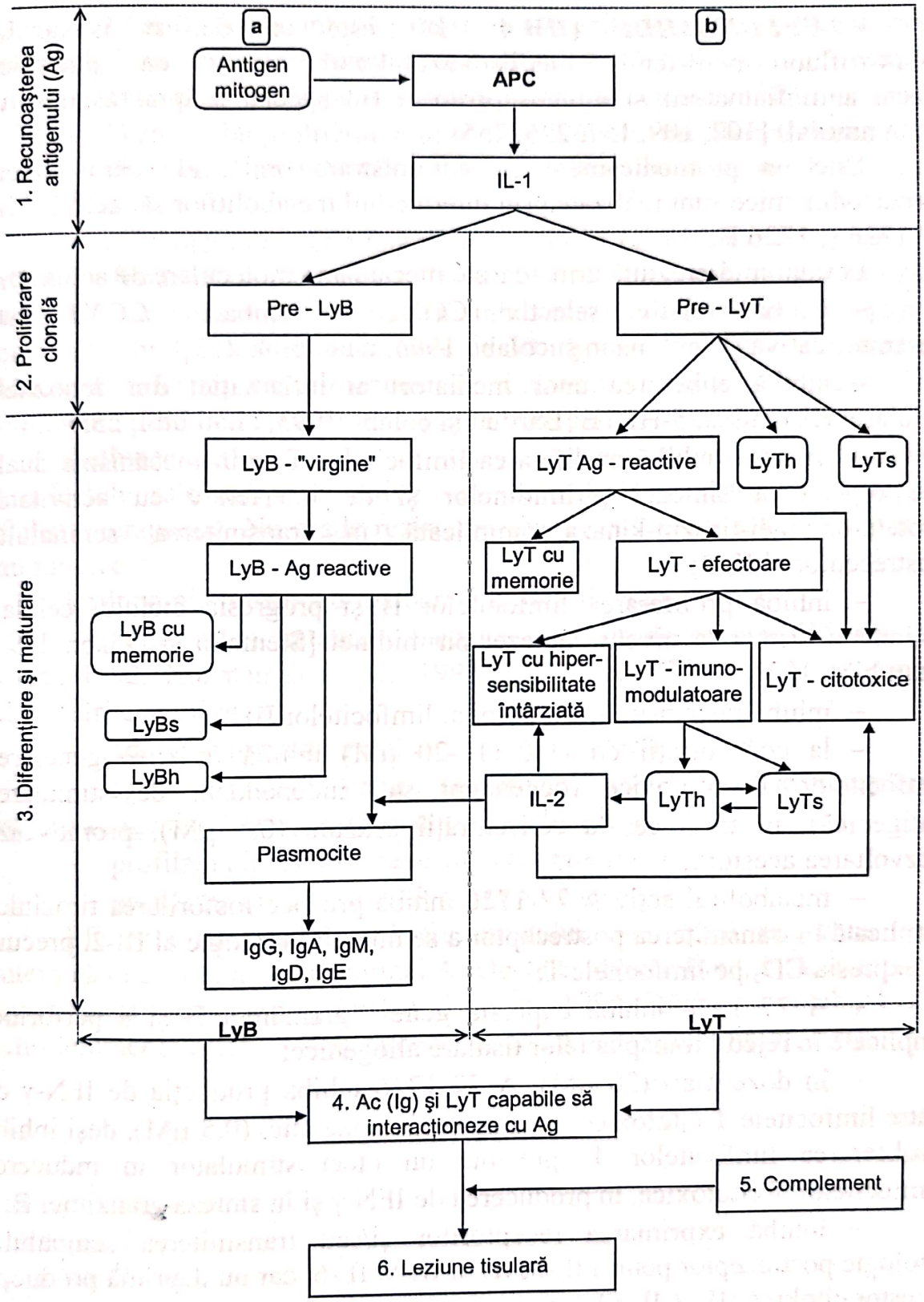


Figura 7.2. Schema simplificată a imunităţii celulare şi umorale şi locurile de acţiune ale agenţilor imunosupresori
(Schemă modificată, după Sydney E. Salmon şi colab., 1995, şi J.A.M Barbuto şi colab., 1995, citaţi bibl. 122, 123, 148)

Scanned with OKEN Scanner

• ***LEFLUNOMIDE (HWA 486)*** este un derivat isoxazolic [N-(4-trifluoro-metil-fenil)-5-metilisoxazol-4-carboxamid] cu puternice efecte antiinflamatorii şi imunosupresoare (în special asupra răspunsului imun umoral) [102, 109, 157, 226, 255].

Este un promedicament cu administrare orală, ale cărui efecte farmacodinamice sunt realizate prin intermediul metaboliților săi activi: A 77 1726 şi 1726 B.

Leflunomid prezintă următoarele mecanisme moleculare de acțiune:

– inhibă relativ selectiv COX2 - inhibarea COX1 este nesemnificativă [Weithmann şi colab., 1994, citați bibl. 255];

– inhibă eliberarea unor mediatori ai inflamației din depozitele celulare: Histamina, 5-HETE [Bartlett şi colab., 1993, citați bibl. 255];

– *in vitro*, inhibă proliferarea limfocitelor T, prin mecanisme duale (de blocare a sintezei pirimidinelor şi de interferare cu activitatea protein-enzimei-tirozin-kinaza, implicată în transmiterea semnalului postreceptor al IL-2;

– inhibă proliferarea limfocitelor B şi progresia ciclului celular, acționând primar la nivelul sintezei pirimidinei [Siemako şi colab., 1996, citați bibl. 102];

– inhibă răspunsul în anticorpi al limfocitelor B;

– la concentrații crescute (10-20 μM) inhibă *in vitro* generarea limfocitelor T citotoxice (dependent sau independent de stimularea antigenică), în timp ce, la concentrații scăzute (0,5 μM), promovează dezvoltarea acestora;

– metabolitul activ A 77 1726 inhibă precoce fosforilarea tirozinică implicată în transmiterea postreceptor a semnalului biologic al IL-2, precum şi expresia CD_5 pe limfocitele T;

– A 77 1726 inhibă expresia genei granzimei B şi a perforinei implicate în rejetul transplantelor tisulare allogenice;

– în doze mari (20 μM), A 77 1726 inhibă producția de IFN-γ de către limfocitele T citotoxice, în timp ce, la doze mici (0,5 μM), deşi inhibă proliferarea limfocitelor T, prezintă un efect stimulator în inducerea limfocitelor T citotoxice, în producerea de IFN-γ şi în sinteza granzimei B;

– inhibă exprimarea receptorilor şi/sau transmiterea semnalului biologic postreceptor pentru IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, dar nu deprimă producția acestor citokine (IL-2-IL-6);

– metabolitul activ, 1726 B, inhibă proliferarea indusă de *Leishmania major* a limfocitelor T, în splină şi ganglionii limfatici (chiar în condițiile suprasaturării cu IL-2 şi IL-4);

Scanned with OKEN Scanner

– 1726 B, la om, inhibă parţial exprimarea lanţului α al receptorului pentru IL-2, la limfocitele stimulate mitogenic;

– 1726 B inhibă răspunsul limfocitelor T la acţiunea TNF;

– 1726 inhibă proliferarea unor linii celulare, proliferare dependentă de următoarele citokine: GM-CSF, IL-3, IL-4 [Bartlett şi colab., 1991, citaţi bibl. 226];

– 1726 oferă protecţie faţă de infecţiile cu *Listeria monocytogenes* şi faţă de infestările cu parazitul *Leishmania major*, parţial, prin stimularea funcţiilor macrofagelor, parţial, prin inhibarea transmiterii postreceptor a semnalului biologic al IL-4 (la doze de 30 mg/kgc/zi, cu 2 zile înainte de inducerea infecţiei experimentale cu *Leishmania major*, la şoareci şi continuând până la o durată totală a tratamentului de 7-10 zile).

Acţiunea Leflunomidului se exercită mai puternic asupra limfocitelor B. Efectele sale antiproliferative sunt reversibile şi netoxice la dozele eficiente terapeutic. Nu scade rezistenţa gazdei faţă de infecţiile bacteriene sau fungice.

Leflunomid prezintă următoarele **indicaţii** terapeutice:

– adjuvant în tratamentul artritei reumatoide cronice [Musikic şi colab., 1992; Rozman şi colab., 1992, citaţi bibl. 255], miastenia gravis, LES, nefrite autoimune;

– adjuvant în tratamentul encefalomielitelor alergice;

– agent profilactic, pentru prevenirea rejetului acut de transplante tisulare allogenice (transplante de cord, rinichi, piele);

– profilaxia infestării grave cu *Leishmania major*;

– profilaxia infecţiilor cu *Listeria monocytogenes*.

Eficienţa terapeutică a Leflunomidului este egală sau chiar mai puternică decât cea a Ciclosporinei A, efectele adverse fiind, însă, mai puţin severe decât ale acesteia [Bartlett şi colab., 1994; Küchle şi colab., 1991; Schrolemmer şi colab., 1993; Thoenes şi colab., 1989, citaţi bibl. 109].

Scanned with OKEN Scanner

2.1.2. Imunostimularea

2.1.2.1. Imunostimularea specifică

Imunostimularea specifică se realizează activ prin vaccinuri sau pasiv prin administrarea de anticorpi preformați sau, mai recent, prin transferul de limfocite T sau limfocite B, provenite de la indivizi sănătoşi aparținând aceluiaşi allotip sau limfocite autologe.

2.1.2.2. Imunostimularea nespecifică

Imunostimularea nespecifică se realizează prin administrarea de imunoadjuvanți (imunostimulatori nespecifici) [11, 17, 30, 50, 62, 81, 87, 88, 125, 148, 189, 198, 221, 235].

În funcție de sursa şi de compoziția lor, imunoadjuvanții se pot **clasifica** astfel:

***2.1.2.2.1. Imunoadjuvanți minerali*:**
- Hidroxidul de aluminiu
- Sulfatul de aluminiu şi potasiu
- Fosfatul de aluminiu
- Sărurile de siliciu
- Sărurile de beriliu

***2.1.2.2.2. Imunoadjuvanți bacterieni*:**
- *Bordetella pertussis* (în trivaccinul DPT)
- Lipopolizaharidul bacterian (LPS)

***2.1.2.2.3. Imunoadjuvanți sintetici*:**
- Muramil-dipeptidul (MDP)

***2.1.2.2.4. Imunoadjuvanți de origine vegetală*:**
- Saponinele

2.1.2.2.5. Imunoadjuvanți uleioşi:
- Adjuvantul Freund complet
- Adjuvantul Freund incomplet

2.1.2.2.6. Liposomii

Până în prezent numai adjuvanții care sunt încorporați în vaccinurile umane sunt geluri minerale, iar dintre aceştia, cel mai comun este Hidroxidul de aluminiu. Astfel, Hidroxidul de aluminiu este folosit în prepararea următoarelor vaccinuri: antidifteric, antitetanic, antihepatită B (cu AgHBs). Antigenul este complexat la suprafața gelului prin interacțiune electrostatică. Proprietățile de adjuvant ale gelurilor minerale au fost descoperite de Glenny în 1926, în "The Wellcome Research Laboratories" [50]. În prezent, proprietățile adsorbtive ale gelului au fost folosite pentru purificarea toxoidului difteric.

Scanned with OKEN Scanner

Bacteriile şi constituenţii lor s-au dovedit o sursă majoră de materiale adjuvante active. *Bordetella pertussis*, agentul cauzal al tusei convulsive, îmbunătăţeşte răspunsul imun la toxoizii difteric şi tetanic, dacă cele trei antigene sunt combinate în trivaccinul DTP. Lipopolizaharidul bacterian (LPS) este un adjuvant puternic pentru vaccinurile umane, dar totodată foarte toxic [17, 50, 62, 67, 148].

Cel mai mare succes în dezvoltarea adjuvanţilor cu potenţial clinic, din compuşii bacterieni, a fost muramil-dipeptidul (MDP). Acesta este o moleculă sintetică, cu greutate moleculară mică, care este un analog al unităţii de peptidoglican din peretele micobacteriei [11, 30, 50, 89, 125, 189, 194, 198].

Numeroase molecule tensioactive de suprafaţă funcţionează, de asemenea, ca imunoadjuvanţi. Una dintre aceste molecule este o saponină, un glicozid triterpenic extras din scoarţa unui arbore din America de Sud, *Quillaia saponaria* şi utilizat ca agent spumant în bauturile slabe. El este folosit ca adjuvant în vaccinurile veterinare indicate în profilaxia bolilor infecţioase cu transmitere pe cale digestivă [50, 189].

Recent a fost descoperită o nouă formulă de saponine, care poate reduce foarte mult doza necesară pentru a produce un efect adjuvant. În prezenţa unei concentraţii mici a unui fosfolipid (lecitina) şi a colesterolului, saponina poate forma un şir de particule structurale de dimensiuni aproximativ egale cu ale unui virus (35 nm diametru); acestea au fost numite complexe imunostimulatoare (ISCOMS). Antigenele cu o porţiune terminală hidrofobă, cum ar fi hemaglutinina virusului influenzei, pot fi încorporate în ISCOMS pentru a forma un material antigenic care este foarte imunogenic [50].

Emulsiile uleioase sunt folosite pe scară largă ca adjuvanţi în vaccinurile experimentale şi veterinare [189]. Primul cercetător în această problemă a fost Julius Freund, în anul 1940. De altfel, doi adjuvanţi îi poartă numele: adjuvantul Freund incomplet şi adjuvantul Freund complet. Adjuvantul incomplet, utilizat în unele vaccinuri veterinare, conţine uleiuri minerale sub formă de emulsii apă/ulei plus un agent emulgator şi antigenul sub formă de picături apoase. Varianta adjuvantului complet conţine în plus celule întregi de mycobacterii suspendate în uleiuri minerale. Acesta nu este numai un adjuvant puternic, ci este şi un puternic inductor al imunităţii mediate celular şi umoral, mai ales la cobai. De asemenea, acest adjuvant induce condiţiile unei artrite, "artrita produsă de adjuvant", la şobolani, care sunt bine cunoscuţi ca modele animale pentru artritele reumatoide [50, 194].

Muramil-dipeptidul (MDP) a fost descoperit în urma cercetărilor pentru componenta activă a mycobacteriei din adjuvantul Freund complet.

Scanned with OKEN Scanner

Emulsiile ulei/apă sunt adjuvanți eficienți, cu condiția ca antigenul să fie adsorbit pe suprafața particulelor uleioase. Un adjuvant de acest tip, care a început să fie folosit pe scară largă, este acela în care uleiul este un scalen, un precursor al sterolului obținut prin biosinteză. Acesta este emulsionat folosind Tween 80 şi un copolimer al polioxietilenului şi polioxipropilenului. Acesta din urmă este un agent dispersant care îmbracă suprafața picăturii uleioase şi leagă antigenele proteice. Acest sistem de emulsie este utilizat împreună cu derivatul MDP, treonil-MDP şi este cunoscut ca SAF-1 [50].

Liposomii reprezintă un alt tip de vehicul lipofilic, care poate servi ca un adjuvant [50, 89, 221]. Antigenul poate să fie inclus în compartimentul apos în interiorul liposomului, fie, dacă el are o porțiune hidrofobă terminală, inserat în stratul bimolecular lipidic. Adjuvanții lipofilici, cum ar fi LPS sau MTP-PE (muramil tripeptid-fosfatidiletanolamina), un derivat al MDP care conține fosfolipid, poate, de asemenea, să fie încorporat în liposomi.

Mecanismul de acțiune al adjuvanților [50, 180, 189]

Au fost emise foarte multe **ipoteze** privind mecanismul de acțiune al adjuvanților. Acestea pot fi clasificate în două categorii:

a) acelea care consideră că adjuvantul are o funcție asemănătoare unui transportor ("carrier-like"), modificând forma fizică a antigenului şi calea prin care este prezentat sistemului imun;

b) acelea care consideră că adjuvantul are un efect farmacologic direct, conducând la o alterare funcțională a celulei țintă.

a) Efectul de simplu transportor al adjuvantului este important pentru a preveni dispersia rapidă a antigenului de la locul de injectare, prin înglobarea în interiorul emulsiei apă/ulei sau prin adsorbția pe un gel mineral. Totuşi, multe dintre noile sisteme de adjuvanți presupun asocierea antigenului cu particule mici, cum ar fi picăturile uleioase, ISCOMS sau liposomii, cu diametrul cuprins între 20-100 nm. Acestea nu trebuie să formeze un depozit la locul infecției, dar, mai mult, au rolul de a facilita transportul antigenului în josul căilor limfatice şi asocierea antigenului cu celulele prezentatoare de antigen în ganglionul limfatic. De asemenea, concentrația locală a antigenului pe sau în particule, creşte şansele eliberării dozei fiziologic eficiente a antigenului la nivelul celulei țintă, iar în cazul limfocitelor B creşte legarea încrucişată cu receptorii imunoglobulinici [50].

b) Un grup relativ mare de adjuvanți au efecte farmacologice. De exemplu, $Al(OH)_3$, LPS şi MDP induc producția de IL-1 de către monocite,

Scanned with OKEN Scanner

iniţiind astfel funcţia monocitelor ca celule prezentatoare de Ag. În al doilea rând, adjuvanţi, ca $AL(OH)_3$, activează complementul pe calea alternă. Sunt produşi, astfel, derivaţi ai complementului cu funcţie chemotactică, care "atrag" celulele apărării imune la locul injectării sau pe căile spre ganglionul limfatic şi potenţează focalizarea complexelor Ag-adjuvant spre receptorii pentru complement de la nivelul celulelor dendritice foliculare din foliculii limfatici. Dacă monocitele prezintă antigenul limfocitelor B, astfel, devin importante pentru generarea memoriei imunologice [50, 189].

Grupul de adjuvanţi ale căror efecte imunofarmacologice sunt mai puternice, este reprezentat de MDP şi derivaţii săi.

MDP are o structură cu următoarea secvenţă: Mur Nac-L-Ala-D-iso-Gln, prezintă proprietăţi adjuvante şi are acţiune antiinfecţioasă, pirogenică şi somnogenică.

Murabutid are o structură cu următoarea secvenţă: Mur Nac-L-Ala-D-Gln-n-butil, are proprietăţi adjuvante şi prezintă acţiune antiinfecţioasă [11].

Treonil-MDP are o structură cu secvenţa: Mur Nac-L-Thr-D-iso-Gln şi are acţiune adjuvantă [50].

MDP original nu a fost acceptat pentru vaccinurile umane, deoarece el este pirogenic, dar această proprietate a fost înlăturată la doi dintre derivaţii săi, Murabutid şi Treonil-MDP. Aceste două molecule diferă, însă, în ceea ce priveşte capacitatea lor de a induce rezistenţa nespecifică faţă de infecţiile bacteriene. Baza acţiunii diferenţiate a derivaţilor MDP nu este complet cunoscută, dar, probabil, este în legătură cu existenţa receptorilor MDP cu specificitate distinctă, care reglează secreţia diferitelor citokine.

Derivaţii MDP combinaţi cu transportori lipofilici sunt deja în faza experimentului clinic.

Cu toate că structural este foarte apropiat de MDP, ***MDP(D-Ala)***, care are o structură cu secvenţa: Mur Nac-D-Ala-D-isoGln, nu prezintă proprietăţi adjuvante şi nici alte efecte farmacodinamice.

Date din literatura de specialitate demonstrează efectele hepatoprotectoare ale MDP, sugerându-se utilizarea acestuia ca adjuvant în tratamentul cirozelor biliare, hepatitelor toxice, al hepatitelor induse de consumul cronic de alcool etilic. Efectele hepatoprotectoare s-ar explica parţial prin acţiunea de captare a radicalilor liberi de oxigen [Kumar şi colab., 1979; Yoshikawa şi colab., 1982, citaţi bibl. 62].

Scanned with OKEN Scanner

2.2. IMUNOMODULAREA PROVOCATĂ NESELECTIVĂ

Dezvoltarea terapiei cu imunomodulatori s-a impus prin necesitatea de a modula răspunsul imun al organismului, fie în sensul stimulării, fie în cel al inhibării acestuia [148].

Indicațiile lor majore sunt reprezentate de:
- imunodeficiențe selective sau generalizate;
- infecțiile cronice (utilizați ca adjuvanți);
- terapia tumorilor (utilizați ca adjuvanți).

2.2.1. Mecanisme moleculare de acțiune

Imunomodulatorii pot acționa atât asupra funcțiilor SI, cât și asupra altor funcții biologice ale organismului [189]:

a. La nivelul SI imunomoduiatorii intervin în realizarea următoarelor funcții biologice:

a.1. Reglarea activității:
- fagocitare a fagocitelor;
- secretorii a fagocitelor;
- de prezentare a antigenului de către celulele fagocitare;
- citotoxice-citostatice a fagocitelor.

a.2. Stimularea:
- proliferării limfocitelor T (LyT);
- secreției de limfokine de către LyT;
- funcției reglatorii a LyT.

a.3. Stimularea:
- sintezei și secreției de anticorpi imunoglobuline (Ac - Ig);
- funcției reglatorii a LyB.

a.4. Reglarea funcțiilor citotoxice a celulelor NK, K.

a.5. Intervin în realizarea altor funcții imune:
- normalizează cooperările celulare;
- activează funcțiile complementului;
- influențează hipersensibilitatea de tip întârziat.

b. Imunomodulatorii intervin în realizarea altor funcții biologice ale organismului, astfel:

b.1. Acționează asupra temperaturii corporale.

b.2. Acționează asupra eliberării de radicali de oxigen.

b.3. Acționează asupra metabolismului fierului (Fe^{2+}).

b.4. Acționează asupra eliminării unor factori nocivi.

b.5. Acționează asupra restabilirii raportului normal dintre germenii gram negativi și gram pozitivi ai florei intestinale.

Scanned with OKEN Scanner

Prin optimizarea recunoaşterii, fagocitării, prelucrării şi prezentării Ag într-o formă mai imunogenă, imunomodulatorii facilitează declanşarea reacţiilor imune mediate celular sau umoral, care vor contribui la refacerea şi menţinerea homeostaziei. Activarea policlonală a limfocitelor poate produce creşterea numărului de LyTc şi a numărului de LyB secretoare de Ig. Se pare însă că aceste activări nu se fac direct, prin relaţia imunomodulator-limfocit, ci pe calea macrofagului, care, prin atributele sale funcţionale, va antrena policlonal întreaga populaţie. Imunomodulatorii naturali sau sintetici readuc la normal funcţiile limfocitelor, monocitelor sau granulocitelor polimorfonucleare. Se consideră că ei ar fi eficienţi numai în cazurile în care dereglarea imună este asociată cu prezenţa în circulaţie sau la nivelul organelor limfoide secundare a unui număr normal sau chiar crescut de limfocite imature funcţional. S-au constatat asemenea efecte folosind imunomodularea în diferite boli neoplazice, inclusiv leucemiile. În absenţa macrofagelor sau a celulelor limfoide sau în cazul alterării profunde, ireversibile, la nivelul acestor populaţii celulare, imunomodularea neselectivă devine un non-sens.

Acţiunea de reglare a funcţiilor citotoxice ale celulelor NK şi K se realizează pentru un timp limitat, după 5-10 zile de la încetarea administrării imunomodulatorului, funcţiile celulelor NK scăzând la valorile iniţiale şi, uneori, chiar sub aceste valori.

Imunomodulatorii diminuează sau chiar anulează efectele imunosupresoare ale unor agenţi de tipul Metilcolantrenului, Cytarabinei, Ciclofosfamidei etc. Este posibil ca această anulare să fie realizată prin acţiunea directă asupra LyT sau asupra macrofagelor. Dar, imunomodulatorii pot avea şi efecte diametral opuse. În absenţa agenţilor supresori, deci, în stări de hiperfuncţii, ei pot acţiona ca stimulatori ai LyTs ai LyBs sau ai macrofagelor supresoare. Aceste date conduc la concluzia că efectul modulator este rezultatul antrenării "in vivo" a diverşi factori, uneori cu funcţii opuse, care concură la menţinerea echilibrului atât de labil, existent între activarea şi supresia răspunsului imun şi care, în esenţă, în condiţii normale, nu reprezintă altceva decât diferite aspecte ale funcţiilor de imunoreglare. De aceea, se impune multă prudenţă în aprecierea efectelor stimulatorii ale unor compuşi de natură biologică sau de sinteză, mai ales atunci când se recurge la teste experimentale simple, ca de exemplu, evaluarea LyT splenice cu capacitate de rozetare.

O posibilitate de amplificare a funcţiilor de apărare imună realizată de către imunomodulatori este stimularea sintezei unor citokine, de către alte citokine, deci, altfel spus, activarea reţelei efectorilor moleculari. Mulţi dintre imunomodulatori influenţează sinteza şi secreţia de citokine sau

Scanned with OKEN Scanner

exprimarea receptorilor pentru aceste citokine. În acest sens, trebuie bine cunoscute proprietăţile lor biologice şi funcţionale, care să permită instituirea unei administrări raţionale. În caz contrar, rezultatele pot fi negative. Astfel, o doză prea mare dintr-un produs cu calităţi imunomodulatoare, poate fi imunosupresoare sau poate induce fenomene autoimune.

Limfocitele, macrofagele, PMN sunt antrenate în detectarea prezenţei Fe^{2+}, fie direct, fie prin intermediul unor proteine de tipul "lactoferinei" sau "transferinei", contribuind la stocarea şi reciclarea acestuia în organism. Ori, atât bacteriile, cât şi celulele canceroase necesită cantităţi sporite de Fe^{2+}, pentru sinteza acizilor lor nucleici. De aceea, imunomodulatorii, stimulând proliferarea policlonală a limfocitelor şi activarea macrofagelor, vor contribui la o mai bună utilizare a Fe^{2+}. O parte din acesta va fi stocat în macrofage şi în celulele dendritice din splină, afectând - prin scăderea concentraţiei sale - condiţiile necesare multiplicării bacteriilor sau celulelor neoplazice. Se pare că acesta este unul dintre mecanismele de acţiune a unor agenţi oxidanţi, ca vitamina A, care, pe lângă activarea funcţiilor NK, reglează şi nivelul Fe^{2+} liber din organism. De asemenea, activarea complementului, creşterea numărului de celule formatoare de rozete, normalizarea proporţiei de LyTs, activarea funcţiilor NK şi a LyTc, intensificarea reacţiilor de hipersensibilitate etc. sunt tot atâtea mijloace nespecifice de activare sau normalizare a reacţiilor de apărare imunitară, realizate de către imunomodulatori şi finalizate prin creşterea rezistenţei organismului la agresiunea tumorală.

2.2.2. Clasificare

Folosind drept criterii, sursa şi/sau modul de obţinere, substanţele active cu efecte imunomodulatoare pot fi **clasificate** astfel [148]:

a) Hormoni cu rol imunomodulator:
- Timozina
- Timopoetina
- Factorul umoral timic

b) Citokine:
- Interferonii alfa, beta, gama
- Interleukinele 1-18
- Factorii de necroză tumorală alfa, beta
- Factorul de stimulare a coloniilor de granulocite- macrofage
- Factorul de stimulare a coloniilor de granulocite
- Factorul de stimulare a coloniilor de macrofage

Scanned with OKEN Scanner

- Factorul de transformare a creşterii
- Factorul de recunoaştere derivat din tumori
- Factorii de creştere ai fibroblastelor
- Eotaxin

c) Extracte din produse biologice umane:
- Immodin-Sevac

d) Imunomodulatori monobacterieni:
- *Bacilul Calmette-Guerin* (BCG)
- *Corynebacterium parvum*
- Ducton
- Deodan
- Biostim
- Cantastim
- Uro-Vaxom
- Picibanil
- OM-89
- Imuvert

e) Imunomodulatori polibacterieni:
- Vaccinul polimicrobian
- Omnadin
- CCB
- I.R.S.-19
- EU-4800
- Stomasina
- Disibiotin
- Reactin
- Lantivac
- Lantigen B
- Lantigen C
- Prodigiosan
- Polidin
- Panodin
- Polysan
- Bronhodin
- Aerodin
- IBC-10
- Broncho-Vaxom

Scanned with OKEN Scanner

- Orostim
- Urostim
- LW 50020
- Ubenimex (Bestatin®)

f) Imunomodulatori din fracțiuni subcelulare bacteriene:
- Ribomunyl
- D_{53}

g) Polizaharide fungice:
- Lentinan
- Schizophyllan (SPG)
- Curdlan sulfatat (CRDS)
- Krestin
- Polizaharide extrase din *Polyporus umbellatus* (PUP)

h) Produse imunomodulatoare din plante:
- Artemisinin (Artemisine®, Arthemeter®)
- Saiboku-to (TJ-96)
- Korean mistletoe (KM-110)
- Ren-shen-yang-rong-tang (Ninjin-yonei-to, NYT)
- Sho-Seiryu-To (SST)
- F36
- RGAE
- Tylogenin
- Sinomenine
  - Acemannan (ACM)
  - Fu-Ling
  - Kum-Hwang-San (KHS)

i) Imunomodulatori cu greutate moleculară mică, produşi de microorganisme:

i.1. Inductori de citokine:
- Cytogenin
- Cytoblastin
- Conagenin

i.2. Antagonişti ai matricei extracelulare:
- Delaminomicine
- IC-101

Scanned with OKEN Scanner

j) Imunomodulatori de sinteză:
- Levamisol
- Thiabendazol
- SM-8849
- Isoprinosina
- Metilinosin monofosfat (MIMP)
- NPT-15392
- Roquinimex
- Dietilditiocarbamat de sodiu (Ditiocarb®, Imuthiol®, DTC)
- Lobenzarid (CCA)
- Cyanidanol-3
- Linomide (Lino)

2.2.3. Efecte farmacodinamice. Indicații terapeutice

a) Hormoni cu rol imunomodulator [30, 40, 50, 122, 123, 148, 189, 235]

• ***TIMOZINA*** este un hormon proteic, sintetizat de componentele epitelioide ale timusului. Din timusul de om şi din timusul bovin s-au izolat următoarele polipeptide acide, cu masă moleculară mai mică de 10000 daltoni, care diferă în secvenţă şi sarcină electrică [30, 189, 235]:

- ***Protimozina α1 (Proα1):*** stimulează acţiunea chemotactică a PMN (la voluntari sănătoşi şi la pacienţi cu tumori colorectale, melanoame şi tumori de sân); produce o creştere a activităţii citotoxice a PMN faţă de celulele tumorale, creşte concentraţia tisulară a PMN la locul agresiunii şi creşte semnificativ răspunsul oxidativ al PMN la bolnavele cu neoplasme de sân (în proporţie de 55 %) şi la pacienţii cu tumori colorectale (în proporţie de 25 %).

Proα1 scade expresia CD_{16} la nivelul PMN, la voluntarii sănătoşi, dar nu influenţează expresia $CD_{11}a$, $CD_{11}b$, $CD_{11}c$, CD_{13}, CD_{14}, CD_{15} şi CD_{32} stimulează interacţiunile gazdă-tumoră. De asemenea, Proα1 stimulează aderenţa celulă/celulă a PMN, la voluntarii sănătoşi.

Proα1 stimulează activitatea antitumorală a limfocitelor şi a monocitelor la pacienţi cu tumori colorectale [58, 96].

- ***Timozina alfa 1***: induce conversia precursorilor de limfocite T (TdT) în precursori mai maturi ($Ly\text{-}123^+$) şi stimulează axa hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană.
- ***Timozina alfa 7***: induce formarea limfocitelor T supresoare;
- ***Timozina beta 7:*** după unii autori, ar fi identică ubiquitinei, cu rol în dirijarea dezvoltării clonelor limfocitare;

Scanned with OKEN Scanner

- ***Timozina beta 3 şi Timozina 4***: induc maturarea limfocitelor T precursoare.

În serul de om normal, concentraţia acestor factori începe să scadă după a 2-a sau a 3-a decadă de viaţă; concentraţia lor scade şi în anumite condiţii patologice (în leucemia limfoidă cronică, în unele imunodeficienţe primare etc.). Nivelurile serice ale Timozinei sunt, de exemplu, scăzute în sindromul Di George (sindrom de deficienţă în celule T) [80].

Efectele imunomodulatorii ale peptidelor timice la pacienţi cu diferite afecţiuni imunologice pot fi grupate astfel [171]:

a) Efecte asupra status-ului imun:

- cresc numărul limfocitelor T din sângele periferic, în special la persoane anergice, cu imunodepresie sau la persoane în vârstă;
- stimulează răspunsul imun timus-dependent;
- stimulează reacţiile de hipersensibilitate întârziată;
- stimulează răspunsul limfocitelor la mitogene (PHA, con A);
- stimulează producţia limfocitară de MIF, IFN, IL-2, GM-CSF;
- scad producţia de citokine proinflamatorii;
- cresc răspunsul chemotactic al PMN;
- cresc capacitatea de fagocitoză a PMN şi a macrofagelor.

b) Efecte asupra stării clinice:

- modifică răspunsul inflamator şi reparator tisular;
- modifică apărarea gazdei faţă de infecţii;
- modifică hematopoieza, coagularea sângelui şi microcirculaţia;
- scade perioada de tratament a unor afecţiuni cu componentă imunologică.

Indicaţii terapeutice ale peptidelor timice [171]:

- inflamaţiile cronice şi/sau în cazul existenţei unor defecte în repararea tisulară;
- imunodepresia indusă de stres;
- optimizarea imunoterapeutică în neoplazii, alături de chimioterapie şi radioterapie;
- disfuncţii imune legate de vârstă.

• ***TIMOPOETINA*** este un polipeptid, cu masă moleculară de 5562 daltoni, sintetizat de timusul epitelial şi secretat în sânge. În secvenţa acestui polipeptid, constituită din 49 aminoacizi, se descriu substituţii de aminoacizi în două poziţii, care diferenţiază forma moleculară I de forma II. Se mai descrie un tridecapeptid biologic activ, care corespunde unui

Scanned with OKEN Scanner

fragment situat între pozitiile 29 şi 41 din lanţul polipeptidic al Timopoetinei.

Timopoetina interacţionează cu pretimocitele, prin intermediul unui receptor specific, activează adenilciclaza, declanşând diferenţierea rapidă a celulelor suşă şi maturarea lor structurală şi funcţională: maturarea structurală se traduce prin apariţia markerilor antigenici limfocitari caracteristici celulelor din corticala timusului, iar cea funcţională prin apariţia reactivităţii la acţiunea mitogenilor specifici celulei T (PHA, ConA etc.) [30, 80].

• ***FACTORUL UMORAL TIMIC (FHT)*** induce imunocompetenţa celulelor din splina şoarecilor timectomizaţi neonatal [30, 189].

Se poate afirma că celulele epiteliale din timus sintetizează şi secretă una sau mai multe substanţe care conferă limfocitelor T reactanţa imunologică şi contribuie la diferenţierea lor în diferite tipuri de limfocite T. Este greu de precizat dacă sunt mai multe substanţe cu proprietăţi biologice diferite în funcţie de factorii din mediu. Independent de FHT, în plasma umană există şi alte peptide cu activitate asemănătoare hormonilor timici. Prin acţiunea lor, mimând acţiunea hormonilor timici, aceste peptide par să stimuleze selectiv sinteza de AMPc a celulelor hidrocortizonsensibile, creşterea populaţiei de timocite hidrocortizonrezistente, respectiv transformarea celulelor cortizonsensibile în celule cortizonrezistente.

Tratând "in vitro" limfocitele cu Timozină, are loc o creştere a numărului de celule care prezintă markeri de suprafaţă pentru limfocitele T şi îndeplinesc funcţii ale acestora. Efectele favorabile ale transplantului de timus foetal în sindromul Di George sunt atribuite acţiunii Timozinei. Hormonul purificat are, deci, posibilităţi terapeutice în sindromul Di George şi în alte stări de deficienţe în limfocite T.

În clinică sunt disponibile următoarele preparate, indicate ca adjuvanţi în tratamentul neoplaziilor şi al infecţiilor cronice [189]:

* Timostimulina®, extract peptidic timic, utilizat în Europa.
* T-activin®, extract peptidic timic, utilizat în Rusia.
* Thym-Uvocal®, extract peptidic timic, utilizat în Germania.
* Thymomodulin®, extract peptidic timic, utilizat în Italia.
* Peptide timice de sinteză: Thymogen®, Vilon®: sunt derivate din Timozina α şi prezintă drept componentă imunoreglatoare Thimalinul.

Scanned with OKEN Scanner

b) Citokinele [5, 21, 27, 28, 30, 40, 48, 50, 59, 65, 70, 72, 74, 80, 84, 97, 100, 103, 104, 107, 113, 114, 123, 131, 134, 144, 148, 153, 175, 189, 209, 235, 239, 241, 260, 261, 267, 275, 280, 281]

• ***INTERFERONII (IFN)*** reprezintă un grup de proteine secretate în prezența unui virus sau a altui agent declanşator, care produc inhibiția multiplicării virale [28, 80, 89, 113, 114, 144, 153, 235]. De asemenea, IFN prezintă proprietăți antiproliferative şi produc "up"-reglarea MHC de clasă I.

ADNc ale IFN au fost clonate în perioada 1980-1981.

IFN-α este produs de celule mononuclear-fagocitare ("IFN leucocitar").

IFN-α are o GM = 18-20 kDa. IFN-α este codificat de o serie de gene localizate pe brațul scurt al cromosomului 9.

IFN-β este produs de fibroblaste, dar şi de leucocite ("IFN fibroblastic").

IFNβ este codificat de o singură genă localizată, de asemenea, pe brațul scurt al cromosomului 9, ca şi genele care codifică sinteza IFN-α.

IFN-γ este secretat de limfocitele T activate şi de celulele NK ("IFN imunitar" sau IFN tip II).

IFN-γ uman este un homodimer cu o GM = 20-25 kDa, depinzând de extensia glicosilării. Sinteza sa este codificată de o singură genă localizată pe cromosomul 12.

IFN joacă rolul de imunomodulator prin efecte stimulatoare sau supresoare ale imunității celulare şi umorale. Aceste efecte pot fi evidențiate şi prin administrarea "in vivo" a IFN. Apariția efectului stimulator sau supresor al imunității depinde de doza de IFN administrată, de tipul şi timpul de administrare şi de momentul administrării IFN față de antigen. Astfel, se constată că administrarea concomitentă a IFN şi a antigenului are efect imunosupresor, în timp ce, administrarea IFN după sensibilizarea sistemului imunitar la antigen, are efect imunostimulator.

IFN stimulează activitatea LyTc, dar IFN-α şi IFN-β inhibă activitatea LyTh prin inhibiția recunoaşterii antigenului prezentat de moleculele HLA, clasa a II-a.

IFN inhibă replicarea HIV.

IFN-γ deprimă răspunsul imun umoral, prin inhibiția producției de IL-4, IL-6 şi IL-10 de către LyTh-2, dar stimulează producția de citokine a LyTh-1 (IFN-γ şi IL-2). IFN-γ este cunoscut prin funcția sa de creştere a

Scanned with OKEN Scanner

expresiei MHC de clasă I şi II pe celulele nucleate şi prin faptul că stimulează funcţiile de celule efectoare ale fagocitelor mononucleare.

IFN-γ este implicat în patogenia unor afecţiuni autoimune şi în procesele inflamatorii cronice. Este utilizat pentru realizarea experimentală a unor modele de LES şi diabet zaharat tip I la şoarece, pentru inducerea cu adjuvanţi a artritelor la şoarece. S-a demonstrat rolul IFN-γ în malaria indusă experimental la şoarece. De asemenea, folosind modele experimentale pe şoarece, s-a demonstrat rolul *in vivo* al IFN-γ de a activa macrofagele, stimulând efectul lor bactericid asupra unor agenţi patogeni intracelulari, cum ar fi *Micobacteriile*

IFN stimulează diferenţierea şi maturarea limfocitelor B prin efect sinergic cu IL-2 şi IL-4, dar scade producţia de imunoglobulină a acestora.

IFN-α şi β activează celulele NK prin creşterea capacităţii citotoxice împotriva celulelor infectate viral şi stimulează producţia de citokine a acestei populaţii celulare.

IFN-α, denumit şi MAF, stimulează activitatea macrofagelor şi potenţialul lor de citotoxicitate (bactericidă şi tumoricidă), precum şi funcţia acestora de celule prezentatoare de antigen. IFN-α creşte participarea macrofagelor la ADCC şi stimulează producţia lor de citokine, cum ar fi: IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, CSF, TNF şi IFN-γ.

IFN -β_{Ib} scade secreţia de TNF, dar stimulează secreţia de IL-6.

În timp ce IFN-α şi IFNβ se leagă la un receptor comun, IFN-γ este recunoscut de un receptor distinct specific, situat la suprafaţa celulei ţintă.

Interferonii prezintă următoarele **indicaţii**:

- infecţii virale diverse;
- prevenirea diseminării herpes-zoster, la pacienţii cu cancer;
- reducerea posibilităţilor de răspândire a citomegalovirus-ului după transplantul renal;
- prevenirea reactivării infecţiei cu herpes simplex, după secţiunea rădăcinii de trigemen;
- hepatitele B şi C;
- terapie adjuvantă în leishmaniozele viscerale severe (alături de compuşii pentavalenţi cu arseniu);
- terapie adjuvantă în: leucemia cu celule păroase, leucemia mieloidă cronică, mielom multiplu, limfoame T cutanate, sarcom Kaposi la bolnavii cu SIDA sau în tumori solide (cum ar fi: melanomul, carcinomul renal, carcinoidul intestinal).

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate interesante au fost obținute prin administrări intracavitare ale IFN (de exemplu, 60% răspunsuri complete în administrarea intraperitoneală, pentru leziuni reziduale microscopice de cancer ovarian).

IFN prezintă următoarele ***efecte adverse***: febră, oboseală, astenie fizică, mialgii, anemie, tulburări gastro-intestinale, tulburări cardio-vasculare.

IFN se administrează în doze de 10^6-10^9 Unități/zi, zilnic, pe cale intravenoasă. IFN uman se poate obține din leucocitele sângelui periferic, fibroblaste, culturi de celule limfoblastoide. De dată relativ recentă, se poate menționa producerea IFN prin tehnici de recombinare a ADN.

Sunt disponibile următoarele preparate:

* Interferon alfa-2a (Roferon-A®), fiole conținând 3,18 milioane UI;
* Interferon alfa-2b (Intron-A®), fiole conținând 3, 5, 10, 25 şi 50 milioane UI.
* Interferon alfa-3a (Alferon N®), fiole conținând 5 milioane UI;
* Interferon - βIb (Betaseron®)

În clinică sunt utilizați, de asemenea, următorii inductori de interferon [81, 189]:

* ***Ampligen***® activează macrofagele şi celulele NK. Este indicat ca adjuvant în terapia neoplaziilor şi a infecțiilor cu HIV.
* ***Bropirimin***® activează macrofagele şi celulele NK. Este indicat ca adjuvant în tratamentul cancerului de vezică urinară. În Rusia este indicat pentru imunoprofilaxie. În SUA a fost testat în infecția HIV, dar fără rezultate satisfăcătoare.

• ***INTERLEUKINELE (IL)*** pot fi definite ca citokine cu rol de mediatori sau reglatori ai răspunsului imun [5, 30, 31, 50, 59, 65, 70, 72, 74, 80, 84, 97, 100, 103, 104, 123, 148, 209, 235, 239, 241, 260, 261, 267, 275, 280].

Răspunsul imun şi, în special, creşterea şi diferențierea limfocitelor T şi a limfocitelor B, sunt reglate de către acest grup de proteine, care sunt toate polipeptide cu lanț unic, care nu au structură omogenă, dar au două trăsături comune:

- toate sunt factori de creştere şi diferențiere pentru leucocite;
- activitatea lor este mediată prin interacțiune cu proteine transmembranare distinctive, prezente pe suprafața celulelor țintă, cunoscute sub numele de receptori interleukinici.

Până în prezent, au fost identificate un număr de 18 proteine, aparținând grupului de IL.

Scanned with OKEN Scanner

Interleukina-1 (IL-1) [30, 50, 80, 123, 235, 280, 281]: se cunosc două tipuri polipeptidice de IL-1, codificate de două gene distincte, notate cu IL-1α şi IL-1β, care se pot lega însă de un receptor comun specific, la nivelul celulelor ţintă. IL-1α are un lanţ de 159 aminoacizi, iar IL-1β are un lanţ de 153 aminoacizi. IL-1 a mai fost denumită: *pirogenul endogen, factorul celulelor mononucleare, factorul activator al limfocitelor* (toate denumirile sugerând rolul IL-1 în inflamaţie).

IL-1α şi IL-1β sunt secretate de macrofage, keratinocite, celule NK, celule dendritice, astrocite, neutrofile, celule musculare netede, fibroblaste, limfocite T, limfocite B, celule endoteliale. Macrofagele secretă IL-1 împreună cu IFN-γ şi factorul de necroză tumorală alfa (TNF-α), substanţe considerate a fi mediatori proinflamatori.

Următorii factori sunt consideraţi stimulatori ai sintezei de IL-1:
- microorganisme: virusuri, bacterii şi levuri;
- produse microbiene: endotoxine, peptidoglicani, exotoxine;
- agenţi inflamatori: săruri biliare, C3a, C5a, cristale de uraţi;
- citokine: IL-1, TNF, IFN, factorii stimulatori de colonii;
- complexe imune;
- iradiaţii cu raze ultraviolete.

IL-1 acţionează pe următoarele celule ţintă: limfocite T, limfocite B, neutrofile, celule endoteliale, osteoclaste, fibroblaste, astrocite, celule beta pancreatice şi altele.

Sunt descrise două tipuri de receptori membranari: IL-1-R-I şi IL-1-R-II. Transmiterea intracelulară a semnalului biologic se face pe calea mesagerilor secunzi (Ca^{2+}, AMPc, DAG, IP3), prin producerea de radicali liberi ai oxigenului şi de oxid nitric. Există un receptor solubil al IL-1, IL-1-R-II supresor, care fixează IL-1 circulantă şi împiedică acţiunea acesteia pe receptorii membranari specifici.

ADN pentru IL-1α şi pentru IL-1β au fost clonaţi în 1984 [280]. Ei sunt codificaţi de două gene diferite, ambele localizate pe cromosomul uman 2. GM este de 22-31 kDa pentru moleculele asociate celulei şi de 17, 5 kDa pentru molecula secretată .

IL-1 prezintă următoarele tipuri de **efecte biologice:**

1. Efecte sistemice:

1.1. Efecte hematologice (descrise în special pentru IL-1α):

a. la nivelul sângelui periferic:

– determină creşterea numărului de elemente figurate albe, în special, a numărului neutrofilelor;

– determină creşterea întârziată a numărului plachetelor (prin inducerea producţiei de IL-6, care, la rândul său, prezintă acţiune trombopoietinică);

b. la nivelul măduvei hematopoietice:

– stimulează proliferarea progenitorilor medulari multipotenţiali (în prezenţa şi altor factori stimulatori de colonii celurare);

– determină creşterea numărului celulelor relativ mature şi a liniei granulocitelor;

– determină creşterea numărului megacariocitelor;

– protejează şi restabileşte măduva hematoformatoare după iradiere sau chimioterapie antineoplazică;

c. la nivelul factorilor de creştere hematopoietici:

– induce IL-6;

– induce producţia de G-CSF şi GM-CSF.

1.2. Efecte pe faza acută a inflamaţiei şi acţiuni metabolice: hipozincemie, hipoferemie, creşterea producţiei proteinelor de fază acută, scăderea sintezei de albumină, creşterea sintezei de insulină, creşterea sintezei de corticosteroizi, creşterea excreţiei sodiului, inhibarea lipoproteinlipazei.

1.3. Efecte asupra funcţiei celulelor endoteliului vascular: creşterea aderenţei pentru leucocite (creşterea adeziunii leucocitelor la endoteliu şi stimularea adeziunii intercelulare: ICAM/ELAM), secreţia factorilor stimulatori de colonii, secreţia PGE_2, prostaciclinelor şi factorului de activare plachetară, expresia activităţii factorului tisular, reducerea activităţii trombomodulinei, reducerea secreţiei activatorului tisular al plasminogenului, creşterea secreţiei de inhibitor al activatorului plasminogenului, eliberarea factorului de creştere derivat din plachete, secreţia de IL-1.

Efectul imunologic major al IL-1α constă într-o creştere semnificativă a nivelurilor "receptorilor" solubili serici pentru IL-2, cu o activare a LyT.

La concentraţii mari, IL-1 produce oxid nitric la nivelul endoteliului vascular. Oxidul nitric activează guanilat-ciclaza, care determină producerea unor concentraţii crescute de GMP_C intracelular, determinând relaxarea musculaturii netede musculare, cu hipotensiune arterială consecutivă. De asemenea, la concentraţii ridicate, IL-1 determină creşterea forţei de contracţie a cordului, creşterea frecvenţei cardiace. Derivaţii de arginină pot bloca formarea enzimatică de oxid nitric şi readuc la normal valorile tensiunii arteriale [134].

Scanned with OKEN Scanner

2. Efecte pe sistemul nervos central şi sistemul endocrin:

- febră;
- la nivelul hipofizei: stimulează secreţia de ACTH, crescând, în felul acesta, nivelul glucocorticoizilor din circulaţie;
- la nivelul gonadelor: scade producţia de androgeni de către celulele Leydig testiculare şi, respectiv, producţia celulelor interstiţiale ovariene;
- la nivelul tiroidei: inhibă secreţia hormonilor tiroidieni;
- la nivelul pancreasului endocrin: inhibă eliberarea de insulină din celulele beta-insulare;
- diminuarea mişcărilor rapide ale globilor oculari în timpul somnului;
- stimularea somnului cu unde lente;
- scăderea apetitului.

Activitatea proinflamatorie a IL-1 se realizează prin:

- inducerea febrei;
- inducerea proteinelor de fază acută;
- creşterea rezistenţei la infecţie;
- activarea celulelor endoteliului vascular;
- proliferarea fibroblastelor;
- activarea fibroblastelor sinoviali;
- inducerea producerii de către monocite a IL-1 şi a TNF;
- lezarea osului/cartilajului.

Atât IL-1α, cât şi IL-1β pot induce febra, prin creşterea sintezei de PGE_2 de către endoteliul vascular al hipotalamusului şi pot stimula proliferarea LyT.

IL-1 produce eliberarea histaminei din mastocite în focarul inflamator. Histamina produce vasodilataţie precoce şi creşte permeabilitatea vasculară.

Efectele proinflamatorii ale IL-1 pot fi inhibate de antagonistul receptorului pentru IL-1: ***IL-1Ra***.

IL-1Ra este produs de macrofagele stimulate de IL-4 sau stimulate de către complexele imune şi de către neutrofilele stimulate de TNF sau GM-CSF. IL-1Ra prezintă similarităţi de structură la nivelul aminoacizilor cu IL-1α şi IL-1β.

IL-1Ra inhibă acţiunea IL-1 prin competiţie cu IL-1 la legarea la receptorul IL-1 (IL-1R).

IL-1 stimulează *in vitro* replicarea HIV. Această citokină poate fi implicată în patogenia encefalopatiei şi a caşexiei din cursul infecţiilor HIV.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, poate fi considerată factor favorizant în producerea infecţiilor cu germeni oportunişti din cursul evoluţiei infecţiilor HIV [59].

Il-1 acţionează "in vivo" sub controlul unor sisteme de reglare, care se realizează pe mai multe căi. Astfel, producerea de IL-1 este controlată prin sinteza unui factor solubil, "receptorul" solubil antagonist al IL-1 (IL-1-RA). Alt mijloc de reglare este producerea de autoanticorpi anti-IL-1α (Ac anti-IL-1α). Ambele mecanisme au importanţă în limitarea producerii de IL-1 în exces (care ar putea duce la deteriorarea ţesuturilor şi la iniţierea unor procese inflamatorii cronice).

Indicaţiile terapeutice ale IL-1α şi IL-1β constau în utilizarea acestora în tratamentul pacienţilor cu melanom. Activitatea antitumorală a IL-1 se află încă în stadiul de testare, în: cancerul gastro-intestinal, cancerul pulmonar, cancerul de sân, cancerul ovarian, cancerul de prostată, tumorile cerebrale, cancerul în sfera ORL.

Se folosesc doze de 0,1–0,3μg IL-1α sau IL-1β/kg. Doza maximă tolerată poate fi crescută, prin asocierea cu Indometacin (inhibitor al sintezei de prostaglandine, care ameliorează toxicitatea IL-1). După 6 ore de la administrarea asociată a 0,1μg IL-1/kg corp plus Indometacin, s-au constatat creşteri semnificative ale nivelurilor serice de G-CSF.

Administrarea IL-1 se poate face pe cale iv, im sau intratumorală. Dar, atât doza optimă, cât şi calea şi schema de administrare nu au fost încă stabilite cu precizie.

IL-1 are şi o acţiune considerabilă hematopoietică şi se testează schemele de utilizare ale acestui agent pentru ameliorarea granulocitopeniei şi trombocitopeniei, care apar în tratamentele mielosupresoare antineoplasice. De asemenea, IL-1 are şi proprietăţi antiinfecţioase, care pot fi utile în tratamentul pacienţilor cu cancer cu risc crescut pentru infecţii.

Efectele secundare ale IL-1 sunt următoarele:

- febră;
-frisoane, contracturi musculare;
- greţuri;
- vărsături;
- oboseală;
- cefalee;
- mialgie, artralgii;
- hipotensiune;
- tahicardie;
- dureri abdominale;
- flebite periferice,

Scanned with OKEN Scanner

iar, la doze mai mari:
- stare confuzivă, somnolenţă;
- dispnee;
- edeme;
- azotemie prerenală.

În terapie sunt utilizaţi şi ***inhibitorii de IL-1***: IL-1-RA şi Ac anti-IL-1α. Pe diferite modele animale, aceşti agenţi şi-au dovedit eficienţa în tratamentul unor afecţiuni, cum ar fi: şocul septic, artritele experimentale, colitele ulcerative cu complexe imune, diabetul, leucemia mielogenică. Rezultate similare au fost obţinute şi în fazele I-III ale experimentului clinic.

Interleukina-2 (IL-2) [30, 50, 59, 80, 235, 265] a fost numită şi *TCGF* şi caracterizată iniţial ca fiind un hormon care controlează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T. În prezent se ştie că o categorie de limfocite T, şi anume, subsetul cunoscut ca Th-1 (LyT-CD4+), secretă IL-2, alături de IFN-γ.

Molecula de IL-2 este un polipeptid cu greutatea moleculară (GM) de 15,4 kDa, având un lanţ de 133 aminoacizi, codificat de o singură genă situată pe cromozomul 4 uman. Poate fi glicozilată în diferite grade, rezultând fragmente cu GM diferite, deşi glicozilarea lanţurilor secundare nu este necesară pentru exercitarea acţiunilor sale.

IL-2 are un timp de înjumătăţire foarte mic în circulaţie şi, de aceea, ea acţionează numai asupra celulelor care o produc sau pe celulele din imediata lor vecinătate.

Celulele ţintă ale IL-2 sunt reprezentate de: limfocitele T, celulele LAK, limfocitele B, macrofage, oligodendrocite.

IL-2 prezintă următoarele **efecte biologice**:
- activează şi stimulează proliferarea limfocitelor T, a celulelor NK şi, în mai mică măsură, a limfocitelor B;
- stimulează activitatea citotoxică a limfocitelor T şi a celulelor NK (care devin astfel celule LAK);
- induce secreţia altor limfokine: IFN-γ, TNFβ, TGFβ, factorii de creştere a limfocitelor B, IL-4, IL-6;
- induce secreţia de Ac de către limfocitele B;
- creşte citotoxicitatea monocitelor;
- induce secreţia factorilor de creştere hematopoetici: IL-3, IL-5, factorul de stimulare a coloniilor de granulocite/macrofage;
- activează neutrofilele;

Scanned with OKEN Scanner

- creşte expresia moleculelor MHC de clasă II la suprafaţa membranei celulelor ţintă.

Prin efectele sale biologice, IL-2 prezintă un rol esenţial în reglarea răspunsului inflamator cronic, atât a celui umoral, cât şi a celui celular.

Administrarea IL-2 la şoareci normali sau cu imunodeficienţe a determinat o creştere a răspunsurilor imune, în special a acelora mediate de limfocitele T citotoxice sau de celulele NK.

Principalele **indicaţii** de tratament ale IL-2 sunt reprezentate de:

- carcinomul renal;
- melanomul metastatic;
- lepra lepromatosum;
- SIDA (în curs de aplicare clinică).

Utilizarea sa la om este limitată de **efecte adverse** severe, care apar la dozele terapeutice de IL-2 şi anume:

- "sindromul de infiltrare vasculară" (acumulare de lichid în cavităţile pleurale, peritoneu şi alte spaţii extravasculare);
- niveluri crescute ale cortisolului seric, cu consecinţe imunosupresoare;
- efecte toxice asupra măduvei hematopoetice: anemii, trombocitopenii severe, eozinofilie, leucocitoză;
- manifestări cutanate: eritrodermie, prurit, favorizarea infecţiilor cutanate;
- artralgii;
- tiroidite (probabil, prin declanşarea unor mecanisme autoimune).

Administrarea IL-2 se face în doze mici sau medii, sub formă de injecţii subcutanate, care permit efectuarea tratamentelor chiar ambulator.

Principala utilizare este sub forma imunoterapiei cu "celule adoptive": LAK, LANAK sau TIL.

Celulele LAK sunt limfocite izolate din sângele periferic după o perfuzie prealabilă cu IL-2 timp de circa 5 zile. Între zilele 8-12, când are loc o creştere accentuată a limfocitelor, bolnavilor li se face zilnic o leucoferează şi limfocitele recoltate sunt cultivate în cultură pentru 72 ore, în prezenţă de IL-2 timp de circa 5 zile. În zilele 12-15, bolnavii sunt transfuzaţi cu limfocite ţinute în cultură timp de 3 zile, concomitent cu perfuzii cu IL-2. O posibilă creştere a eficacităţii LAK/IL-2 s-ar realiza prin administrarea locoregională (cum sugerează unele rezultate obţinute în tratamentele experimentale din cancerele ORL).

Celulele LANAK sunt o populaţie selecţionată de celule NK obţinută prin tehnici dificile de purificare, puse la punct la Institutul G. Roussy.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele TIL sunt obținute prin dilacerare mecanică și digestia enzimatică a unor fragmente de tumoră. Aceste limfocite autologe, susceptibile de a fi "activate" in vivo, sunt amplificate în cultură în prezență de IL-2, pentru o durată de mai multe săptămâni, după care sunt reinjectate bolnavului. Faptul că sunt recoltate din fragmentul tumoral, sugerează o sensibilizare a lor, respectiv, că au fost capabile să recunoască deja antigenul și să fie, deci, mai active. Rezultatele nu sunt concludente, dar numeroase studii sunt în curs, în legătură cu utilizarea celulelor TIL în: melanom, carcinom renal, cancer pulmonar, mamar și de ovar.

Studii pe animale de laborator sugerează că tratamentul cu Ac anti-IL-2R, care sunt antagoniști competitivi cu IL-2 pentru receptorul celular al IL-2 (IL-2R), poate prelungi supraviețuirea allografelor tisulare și poate induce o toleranță pe termen lung pentru grefe. În plus, fuziunea proteică produce legarea covalentă a IL-2 la toxine (cum ar fi, toxina diftrică), situație care ar putea fi explorată pentru posibilitatea "eradicării" selective a celulelor care poartă pe suprafața lor IL-2. Această fuziune proteică este foarte eficientă "in vitro" și poate fi utilă în tramentul leucemiei cu celule T a adultului, precum și a altor neoplazii cu celule care exprimă IL-2R.

Interleukina-3 (IL-3), denumită și *multi-CSF,* descrisă pentru prima dată ca factor eliberat de limfocitele T stimulate mitogenic cu PHA, a primit mai târziu și alte denumiri, ca: factor de stimulare a producției de histamină, factor de creștere a mastocitelor etc [30, 50, 80, 235, 280, 281].

Sursele celulare ale IL-3 sunt: limfocitele T, mastocitele, keratinocitele.

Celulele țintă ale IL-3 sunt: celulele stem medulare, eozinofilele.

IL-3 este o proteină cu o conformație dimerică, de 14-36 kDa și secvența de 152 aminoacizi constantă într-o proporție de 28%. Clonarea ADNc a fost realizată în 1984. Gena care codifică IL-3 este localizată pe cromosomul 5. La nivelul capătului amino-terminal există secvența "leader" de 19 aminoacizi. Zona activă a structurii corespunde pozițiilor 17-19 din lanțul polipeptidic. Receptorul pentru IL-3 (IL-3-R) este distribuit pe suprafața precursorilor liniei mieloide, pe mastocite, macrofage, bazofile și limfocite T.

IL-3R are structură polipeptidică monomeră, de 75 kDa sau dimeră, reprezentată de lanțul α (120 kDa) și β (130 kDa), care este comun pentru receptorii factorului de stimulare a coloniilor de granulocite/macrofage (GM-CSF-R) și ai IL-5 (IL-5-R). Afinitatea pentru ligand variază între 100-1000 pM. Fixarea IL-3, IL-5 sau a GM-CSF pe receptorii IL-3-R se

Scanned with OKEN Scanner

traduce prin activarea tirozinkinazei şi proteinkinazei C, autofosforilarea lanţului β şi fosforilarea unor proteine intracelulare.

IL-3 prezintă următoarele **efecte biologice**:

- acţionează ca factor de creştere hematopoietic pluripotent, în principal pentru liniile granulocitară, monocitară, megalocitară şi eritrocitară, precum şi ca factor de diferenţiere a bazofilelor umane şi factor de diferenţiere a eozinofilelor;
- stimulează diferenţierea trombocitelor;
- prin acţiune sinergică cu IL-4 asigură şi stimulează producţia anionului peroxid de către eozinofile şi ADCC;
- stimulează funcţia de fagocitoză a neutrofilelor şi a macrofagelor mature;
- potenţează realizarea unor efecte biologice ale GM-CSF;
- stimulează maturarea celulelor pre-beta, transformându-le în limfocite B capabile să secrete IgM;
- poate stimula proliferarea şi poate menţine în viaţă (in vitro) culturile de celule B imature, la fel cum pentru celulele mature acţionează în acest sens BCGF;
- inhibă activitatea celulelor LAK.

De menţionat este faptul că limfocitele B mature posedă receptori pentru BCGF, dar nu şi pentru IL-3, în timp ce limfocitele B tinere posedă receptori pentru IL-3, dar nu şi pentru BCGF.

IL-3 prezintă următoarele **indicaţii** în terapie:

- pentru stimularea producţiei de plachete şi megacariocite şi pentru stimularea eritropoiezei la pacienţii cu insuficienţă a măduvei hematoformatoare (folosită doar ca alternativă de tratament; se preferă factorii stimulatori mieloizi - IL-5, IL-9, IL-11 - şi eritropoietina, care sunt mult mai puţin toxici şi au acţiuni mai selective);
- pentru tratarea leucemiilor cu celule pre-B.

Interleukina-4 (IL-4), deşi a fost descrisă iniţial în 1982 ca BCGF-1, distinct de IL-2 şi indus de IgM, are acţiune pleiotropă pe celule limfoide şi nonlimfoide [27, 48, 80, 84, 97, 209, 267].

IL-4 este o proteină glicozilată, de 15-19 kDa şi 153 aminoacizi, prezentându-se sub formă dimerică. Sinteza sa este codificată de o genă situată pe cromosomul 5 uman, iar ADNc corespunzător a fost clonat în 1986.

Scanned with OKEN Scanner

Sursele de IL-4 sunt reprezentate de LyTh-2, mastocite şi bazofile, iar celulele ţintă pentru IL-4, de limfocite T, limfocite B, mastocite, megacariocite, celule LAK, celule NK, fibroblaste, celule endoteliale.

Receptorul pentru IL-4 (IL-4-R) are o largă distribuţie pe membrana celulelor ţintă, densitatea celulelor crescând în cursul activării celulare. Afinitatea pentru IL-4 variază între 0,05-1nM.

IL-4R este o proteină membranară de 140 kDa. Există şi o formă solubilă (IL-4-Rs) de 40 kD, care rezultă din îmbinarea diferenţiată a ARNm. Mecanismul de semnalizare intracelulară este reprezentat de activarea tirozinkinazei.

IL-4 prezintă următoarele **efecte biologice**:

1) efecte pe limfocitele B:

- acţionează ca factor comitogen al limfocitelor B activate de antigen şi stimulează dezvoltarea acestei populaţii celulare;
- creşte expresia moleculelor HLA clasa a II-a şi stimulează funcţia de celulă prezentatoare de antigen a limfocitului B către LyTh;
- este factor reglator major al expresiei izotipului de Ig produse de limfocitele B activate;
- stimulează producţia de IgG_1 şi IgE, dar scade producţia de IgG_2 şi IgG_3, prin comutarea izotipului la genele C_{gama-1} şi $C_{epsilon}$;
- creşte expresia $Fc_{epsilon}R$ (CD_2) de pe limfocitele B.

2) efecte pe limfocitele T:

- este factor comitogen pentru timocite;
- favorizează diferenţierea LyT spre LyTh-2, cu suprimarea dezvoltării LyTh-1;
- activează limfocitele T citotoxice şi celulele LAK, acţionând indirect, sinergic cu IL-2;
- ca şi IL-6, inhibă producerea de limfokine de către LyTh-1 (de exemplu, producerea de IL-2, IFN şi TNF), fiind astfel un reglator al funcţiei LyTh-1, in vivo.

3) efecte pe macrofage/monocite:

- stimulează formarea receptorilor IL-1-RA pe aceste celule;
- activează macrofagele, stimulând activitatea citotoxică a acestora, dar şi funcţia de prezentare a antigenului;
- creşte expresia moleculelor HLA de clasa a II-a pe suprafaţa celulară;
- inhibă eliberarea citokinelor proinflamatorii (IL-1, IL-6, IL-8 şi TNFα) de către monocitele activate.

Scanned with OKEN Scanner

4) efecte pe mastocite:

- induce proliferarea şi dezvoltarea liniei celulare mastocitare;
- este prezentă, alături de IL-5 şi IL-6, în granulele mastocitelor, ca şi în granulele bazofilelor, sugerând că intervine în stimularea producerii de IgE.

5) alte efecte:

- are activitate antitumorală, în special când este injectată local;
- oferă protecţie, împiedicând evoluţia leziunilor, în bolile colagen-induse, stimulând secreţia factorului Anti-human colagen IV;
- ca şi IFNγ, TNFα şi Il-10, ar fi eficientă ca adjuvant în tratamentul infecţiilor cu bacterii intracelulare.

În mod normal, un control strict al secreţiei de IL-4 este esenţial în generarea răspunsului imun mediat prin IgE, faţă de unele parazitoze, cum sunt cele helmintice.

Absenţa IL-4 conduce la nivelul de IgG_1 semnificativ scăzute în răspunsul imun dependent de LyT. Efectele stimulatorii ale IL-4 pe IgG_1 şi pe producţia de IgE, precum şi asupra inducerii MHC de clasă II sunt "down"-reglate de IFN-γ, o citokină ale cărei funcţii sunt antagonizate de IL-4 şi "vice versa".

IL-4, de asemenea, stimulează producţia de colagen şi de IL-6 de către fibroblastele din dermul uman şi poate, astfel, juca un rol în patogeneza bolilor fibrotice, cum ar fi sclerozele sistemice [280].

Secreţia de IL-4 este controlată genetic. Hipersecreţia de Il-4 poate induce reacţii inflamatorii alergice, iar prezenţa unui element reglator inhibitor poate preveni aceste reacţii [144]. Un astfel de inhibitor ar putea fi IL-12, care acţionează indirect, inhibând răspunsul IgE indus de IL-4 prin mecanisme dependente şi independente de IFNγ.

Pe de altă parte, în artritele reumatoide, IL-4 pare să exercite unele proprietăţi antiinflamatorii prin inhibarea producţiei unor citokine proinflamatorii, cum ar fi: IL-1, IL-6, IL-8 şi TNFα, la nivelul membranelor sinuviale ale pacienţilor cu această afecţiune [280].

Interleukina-5 (IL-5), cunoscută şi ca *BCGF II* sau ca *TRF,* este o citokină de natură glicoproteică, produsă de LyTh-2, mastocite, bazofile, celule NK. Celulele ţintă ale IL-5 sunt: LyT, LyB, eozinofilele [5, 65, 74, 80, 235, 275, 280, 281].

IL-5 este un oligomer de 20-22 kDa, cu o secvenţă de 134 aminoacizi, codificată de o singură genă situată pe cromosomul 5 uman. ADNc a fost clonat în 1987 [280].

Scanned with OKEN Scanner

Receptorul pentru IL-5 (IL-5-R) face parte din familia receptorilor hematopoietici. Este distribuit pe eozinofile, bazofile, limfocite T, limfocite B. Are două lanţuri polipeptidice: α, de 60kD, şi β, de 130 kD, comun pentru GM-CSR-R şi IL-3-R. Forma solubilă (IL-5-Rs) rezultă din proteoliza enzimatică a segmentului extracelular al lanţului polipeptidic α. Mecanismul de semnalizare este mediat de segmentul intracelular, bogat în prolină, care activează tirozinkinaza.

IL-5 prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează diferenţierea, proliferarea şi activarea eozinofilelor şi facilitează mecanismul citotoxic antiparazitar al eozinofilelor mature (acest factor de diferenţiere a eozinofilelor - EDF - este diferit de alţi factori asemănători secretaţi de limfocitele Th activate);
- prin efect sinergic cu IL-2 şi IL-4, stimulează diferenţierea şi proliferarea limfocitelor B;
- stimulează producţia de anticorpi, în special de IgA, cu rol în imunitatea mucoaselor, prin comutarea producţiei de Ig la izotipul IgA;
- este un factor mitogen pentru timocite şi are acţiune sinergică cu IL-2 în ceea ce priveşte stimularea diferenţierii limfocitelor T citotoxice şi activarea limfocitelor T, prin creşterea expresiei receptorilor IL-2-R;
- intensifică citotoxicitatea LyTc;
- stimulează activitatea bazofilelor, în principal crescând eliberarea de către aceste celule a unor mediatori, cum ar fi histamina şi leucotrienele, ca răspuns la diferite semnale.

Implicarea IL-5 în diferenţierea, recrutarea şi activarea eozinofilelor are un efect particular în declanşarea reacţiilor inflamatorii alergice, în principal în astmul bronşic [74].

Producţia combinată de IL-4 şi IL-5 de către LyTh-2 CD_4. conduce, deci, în final, la o producţie crescut[de IgE şi IgA de către mastocite şi la stimularea activităţii eozinofilului.

Anticorpii anti-IL-5 scad numărul eozinofilelor în circulaţia periferică, ca şi nivelurile eozinofilelor din spută, la astmatici, după expunerea la Ag. Deşi se produce o scădere a nivelurilor eozinofilelor în sânge şi în spută, nu se constată şi un efect inhibitor pe fazele precoce şi tardivă ale răspunsului căilor aeriene la Ag inhalat.

Datele experimentale sugerează un mecanism predominant independent de eozinofil în faza tardivă a răspunsului la alergenul inhalat. Pentru a clarifica importanţa inhibării inflamaţiei eozinofilice la astmatici, sunt necesare biopsii bronşice, care să confirme absenţa eozinofilelor şi a

Scanned with OKEN Scanner

produşilor eliberaţi din granulele eozinofilice la nivelul căilor aeriene, la astmaticii trataţi cu Ac anti-IL-5 [31].

Interleukina-6 (IL-6), produsă de limfocitele Th-2 umane, dar şi de alte celule, cum sunt monocitele sau macrofagele activate, celulele endoteliale şi fibroblastele, este cunoscută sub diferite denumiri, având activităţi multiple: *BCDF, BSF-2, interferon beta-2, factor de stimulare a* hepatocitelor, factor de creştere al hibridoamelor/plasmocitoamelor etc. [80, 122, 123, 280, 281].

IL-6 este o glicoproteină cu o greutate moleculară variabilă între 21 şi 28 kD dependentă de gradul de glicozilare şi de fosforilare a aceleiaşi proteine, dar care nu este esenţial pentru activitatea ei biologică. Este codificată de o singură genă situată pe cromozomul 7.

Receptorul pentru IL-6 (IL-6-R) aparţine familiei receptorilor hematopoietici. Este distribuit pe limfocitele B, limfocitele T în repaus şi activate, hepatocite, celule precursoare hematopoietice mielo-monocitare, fibroblaste şi celule mezangiale. Structural, IL-6-R este alcătuit din două subunităţi, de 60 kD şi, respectiv, 130 kD. Cele două subunităţi se asociază monocovalent într-un complex de înaltă afinitate pentru IL-6 (40-70pM). Expresia receptorului este dependentă de tipul celular, starea de repaus sau activare, precum şi de gradul de maturare şi diferenţiere a celulei. Numărul receptorilor de pe limfocitele T scade în urma activării celulare, în timp ce densitatea acestora creşte pe limfocitele B activate. IL-6-R apar pe limfocitele B numai în stadiile finale ale maturării acestei linii celulare. Expresia receptorilor este crescută pe celulele mielomului multiplu, ceea ce dovedeşte rolul IL-6 în dezvoltarea acestei tumori. IL-6-R prezintă o formă solubilă (IL-6-Rs) rezultată din proteoliza subunităţii de 60 kD. Mecanismul de semnalizare intracelulară nu este complet cunoscut. Nu este activată tirozinkinaza.

ADNc al IL-6 a fost clonat în 1986, iar gena care codifică IL-6 se află pe cromosomul 7 uman [280].

"Up"-reglarea producţiei de IL-6 a fost observată într-o varietate de boli cronice inflamatorii şi autoimune, cum ar fi: tiroidite, diabet tip I, artrite reumatoide, scleroze sistemice, glomerulonefrite proliferative mesangiale şi psoriazis şi neoplasme, cum ar fi: mixomul cardiac, carcinoamele renale, mielomul multiplu, limfomul, leucemiile [280].

Scanned with OKEN Scanner

IL-6 prezintă următoarele **efecte biologice**:

1) efecte pe limfocitele B:

- prin acţiune sinergică, cu IL-1 şi IL-10, acţionează ca BCGF-2;
- este factor mitogen al limfocitelor B activate (de antigen sau mitogen);
- stimulează producţia de IgG, IgM şi IgA.

2) efecte pe limfocitele T:

- stimulează diferenţierea limfocitelor Th şi a limfocitelor T citotoxice;
- este factor costimulator pentru limfocitele T mature;
- stimulează producerea IL-2 de către LyTh-1şi induce expresia receptorului pentru IL-2;

3) efecte proinflamatorii prin stimularea producţiei "proteinelor de fază acută", prin sinteză hepatică (este considerat HSF), astfel:

a) "proteine de fază acută" induse de IL-1, IL-6 sau TNF:

- factorul C3 al complementului
- haptoglobina
- proteina C reactivă
- α1-glicoproteina acidă
- factorul B
- proteinele amiloide serice A şi P

b) "proteine de fază acută" reglate numai de IL-6:

- fibrinogenul
- hemopexina
- inhibitorul cistein-proteinazei
- α1-antichimotripsina
- α2-macroglobulina
- inhibă sinteza a două proteine serice, la nivelul ficatului:
- albumina
- prealbumina
- acţionează asupra hipotalamusului ca "factor pirogen endogen" (împreună cu IL-1 şi TNF);
- stimulează activitatea fagocitară a leucocitelor şi participarea acestora la ADCC.

4) efecte hematopoietice:

- stimulează trombopoieza;
- stimulează proliferarea megacariocitelor.

5) alte efecte:

- induce sau stimulează proliferarea celulelor endoteliale;
- induce sau stimulează proliferarea celulelor leucemice;

Scanned with OKEN Scanner

- stimulează dezvoltarea celulelor maligne în sarcomul Kaposi/limfoame [59];

- efecte reglatorii, prin inhibarea producţiei de TNF, realizând, astfel, un feed-back negativ pentru limitarea răspunsului inflamator acut;

- stimulează *in vitro* replicarea HIV; este implicată în patogenia encefalopatiei şi a caşexiei din cursul infecţiilor HIV; poate fi considerată factor favorizant în producerea infecţiilor cu germeni oportunişti din cursul evoluţiei infecţiilor HIV [59];

- are acţiune neurotrofică;

- prezintă acţiune antivirală.

Il-6 poate fi un indicator timpuriu în infecţiile acute, astfel că dozarea în plasmă poate avea valoare diagnostică.

Ac anti IL-6 sunt eficienţi în sindromul organic multiplu ce apare ca urmare a şocului endotoxinic, precum şi ca adjuvant în terapia infecţiilor HIV [241].

Interleukina-7 (IL-7) [80, 122, 123, 235, 280, 281], descrisă în 1988, a fost obţinută printr-o metodă de clonare a unei linii celulare derivate din celule stromale ale măduvei osoase de la şoarece. Benjamin şi colab. demonstrează, în 1994, că limfocitele B secretă mai multe limfokine, printre care şi IL-7 [280]. A fost purificată sub numele de *factor de creştere a celulelor preB.*

ADNc a fost clonat 1989. Genele care comandă sinteza IL-7 au fost localizate pe cromosomul 8 uman.[280] .

IL-7 se prezintă sub forma unui monomer de 25 kD şi 177 aminoacizi.

IL-7 este produsă în stroma celulelor din măduva hematogenă, timus şi splină.

Receptorul pentru IL-7 (IL-7-R) este o proteină de 75 kD, distribuită pe suprafaţa progenitorilor limfoizi B şi T, timocite, celule LAK şi limfocite T citotoxice. Afinitatea pentru ligand este de 10-100 micromoli. Există o formă solubilă (IL-7-Rs), care rezultă prin îmbinarea diferenţiată a ARN mesager. Mecanismul de transmitere intracelulară a semnalului biologic constă în activarea tirozinkinazei şi a căii fosfatidil-inozitolului.

IL-7 prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează diferenţierea celulei stem multipotente în progenitori limfoizi B şi T;

- stimulează diferenţierea celulei imature pre-B, maturarea limfocitelor B şi induce rearanjarea genelor Ig în etapele iniţiale ale dezvoltării limfocitelor B;

Scanned with OKEN Scanner

- induce proliferarea timocitelor dublu negative (CD4-/CD--) şi a clonelor de limfocite CD4+ şi CD8+;
- este un cofactor esenţial al rearanjării genelor V(D)J ale receptorului pentru antigene (TCR) în timocitele imature şi al transcripţiei genelor variabile (V) ale lanţului din structura receptorului;
- stimulează expresia genelor RAG-1 şi RAG-2, care, la rândul lor, iniţiază şi limitează mecanismul rearanjării;
- stimulează expresia ARNm după genele reglatoare RAG-1 şi RAG-2;
- stimulează formarea LAK;
- în concentraţii mari, induce activitatea citotoxică a macrofagelor şi secreţia de citokine de către monocite.

IL-7 acţionează ca un factor de creştere al LyB şi al LyT CD_8, precum şi al timocitelor.

Interleukina-8 (IL-8) a fost cunoscută iniţial ca factor proteic de activare a neutrofilelor [80, 123, 280, 281].

IL-8 este formată din 72 aminoacizi şi prezintă două funcţii disulfurice intramoleculare. Este o chemokină cu o greutate moleculară mică, cuprinsă între 6 şi 10 kDa.

Sursele celulare ale IL-8 sunt reprezentate de monocite, fibroblaste, celule endoteliale, macrofage alveolare, celule epiteliale, trombocite şi celule NK.

Producţia de IL-8 este stimulată de următorii factori:
- LPS;
- TNF α;
- IL-1;
- IL-7
- IL-6;
- hipoxia.

Se descriu două tipuri de receptori (IL-8-R I şi IL-8-R II), de 58-60 kD, care se deosebesc prin secvenţa de aminoacizi şi densitatea celulară. Au aceeaşi afinitate de legare, de 0,1-4 nM, precum şi mecanism de semnalizare intracelulară comun (creşterea concentraţiei citoplasmatice a ionului de calciu, calea fosfatidil-inozitolului). Ambele tipuri de receptori sunt distribuiţi pe celulele ţintă: neutrofile, bazofile, monocite, macrofage, celule endoteliale, fibroblaste, limfocite T.

ADNc al IL-8 a fost în trei laboratoare diferite, între anii 1987-1989 [280]. Gena corespondentă este localizată pe cromosomul 4 uman.

Scanned with OKEN Scanner

IL-8, IL-1 şi TNF sunt implicate în recrutarea neutrofilului prin "up"-reglarea exprimării moleculei de adeziune pe suprafaţa celulei (cum ar fi molecula de adeziune a leucocitului la endoteliu, ELAM-1 şi molecula de adeziune intracelulară, ICAM-1), prin aceasta crescând aderenţa neutrofilului la celulele endoteliale şi facilitând diapedeza lor prin peretele vascular. Astfel, IL-8 mediază recrutarea şi activarea neutrofilelor în ţesutul inflamat. IL-8 poate fi detectată în lichidul sinovial de la pacienţi cu diferite boli reumatismale inflamatorii, iar nivelurile IL-8 în mucoase sunt crescute la pacienţi cu colite ulcerative acute [280].

IL-8 face parte din familia chemokinelor, care cuprinde, de asemenea: ***factorul plachetar 4, IP-10, MIG, ENA-78, MIP-1α*** şi ***β, MIP-2, MCP-1JE, RANTES.***

Aceste chemokine (citokine chemotactice) sunt responsabile pentru migrarea chemotactică şi activarea neutrofilelor şi a altor tipuri celulare (cum ar fi, monocite, limfocite, bazofile şi eozinofile) la nivelul situsurilor inflamaţiei. S-au diferenţiat două subseturi ale familiei de chemokine "CXC" (sau α) şi "C-C" (sau β) pe baza prezenţei sau absenţei unui aminoacid între primii 2 şi al patrulea C (reprezentat de cisteină). Un recent al treilea subset, "C", conţine numai 2 cisteine şi cuprinde numai un membru, IL-16 (recent identificată).

Chemokinele sunt implicate în procesele inflamatorii acute mediate de neutrofil, cum ar fi sindromul de detresă respiratorie acută din astmul alergic, artrite, psoriazis, boli inflamatorii. Până în prezent, au fost descrise aproximativ, 27 chemokine. Produs al celor mai multe tipuri celulare, incluzând fagocitele mononucleare, celulele T – activate de Ag, celulele endoteliale şi celulele epiteliale şi, în măsură egală, neutrofilele, IL-8 a fost cunoscută iniţial ca *NCF* sau ca *NAP-1*.

Ceilalţi membri ai acestei familii de citokine, cum ar fi: *NAP-2, GROα, GROβ, GROγ, ENA-78, RANTES, MCP-1, MCP-2, MCP-3, factorul plachetar 4, MIP-1α/β, MIP-2*, joacă un rol important în inflamaţia acută, prin efectele lor pe migrarea celulară.

MCP-1 este o chemokină identificată în supernatantul celulelor mononucleare ale sângelui periferic. MIP-1α, MPC-1 şi MIP-2 sunt implicate în patogeneza artritelor reumatoide, unde ele joacă un rol important în recrutarea celulelor mononucleare în regiunile inflamate ale sinovialei. Diferiţi alţi membri ai familiei de chemokine (între care şi IL-8) prezintă unele efecte biologice care nu sunt încă bine definite [280]..

Scanned with OKEN Scanner

Efectele biologice ale IL-8 sunt următoarele:

- este un factor chemotactic pentru neutrofile, pentru LyTh-1 şi pentru bazofile;
- activează neutrofilele şi produce degranularea acestora;
- produce eliberarea de enzime lizozomale;
- creşte aderarea şi migrarea transendotelială a fagocitelor.

Alături de IL-1, IL-8 este considerată o limfokină proinflamatoare [280, 281].

Interleukina-9 (IL-9), iniţial denumită *factorul P_{40} de creştere a celulelor T de şoarece* sau *MEA*, este un polipeptid glicozilat, cu o greutate moleculară de 30-40 kDa. ADNc al IL-9 a fost clonat în anul 1989, iar gena care îl codifică este localizată pe cromosomul 5 uman [80, 123, 280, 281]. Este secretată de: LyTh CD_{4+} (LyTh-2), mastocite, celulele unor limfoame cu LyB. Producţia sa este dependentă de IL-4 şi IL-10 şi, astfel, de IL-2.

Celulele ţintă sunt reprezentate de: macrofage, mastocite şi progenitorii eritroizi umani.

Date experimentale obţinute pe rozătoare sugerează că IL-9 are un rol în declanşarea exprimării lanţului alfa al $Fc_{epsilon}RI$, fără a fi clar dacă acest rol este similar şi la om. Se ştie că diferenţierea celulelor bazofile şi a mastocitelor este legată de expresia $Fc_{epsilon}RI$ a cărui sinteză se pare că este unul dintre primele procese implicate în formarea granulelor metacromatice. Acţiunea IL-9 este potenţată de cea a altor limfokine, cum ar fi: IL-3, IL-4 şi IL-10.

IL-9 are ***rol*** reglator, în sensul că inhibă producţia de limfokine de către LyT CD_{4+} stimulate de IFNγ şi stimulează creşterea LyT CD_{8+}.

În plus, IL-9 promovează producţia de Ig de către LyB şi proliferarea mastocitelor [280].

Interleukina-10 (IL-10) a fost iniţial identificată ca *factor inhibitor al secreţiei de citokine (CSIF)*, deoarece ea inhibă producţia de IFNγ de către limfocitele T activate [80, 123, 280, 281]. Este o proteină glicozilată, un dimer de 33 kD şi 157 aminoacizi, care prezintă două punţi disulfurice intramoleculare. ADNc pentru IL-10 umană a fost clonat în anul 1990 având o GM = 18 kDa.

IL-10 este produsă de limfocitele Th-1 şi Th-2, activate de agenţi patogeni cu dezvoltare intracelulară. Alte surse celulare de IL-10 sunt reprezentate de: unele limfocite B (CD5+), macrofage, monocite, keratinocite şi unele celule tumorale.

Scanned with OKEN Scanner

Celulele ţintă ale IL-10 sunt: macrofagele, mastocitele, celulele NK, limfocitele T şi limfocitele B.

IL-10 prezintă următoarele **efecte biologice**:

- inhibă răspunsul proliferativ al unor limfocite Th şi producţia de citokine de către limfocitele Th-1 (în special a IFN-gama), de către limfocitele Th-2 (a IL-4 şi IL-5), de către celulele NK şi APC;
- stimulează răspunsul proliferativ şi funcţia citotoxică a limfocitelor T citotoxice;
- promovează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor B şi a mastocitelor;
- deprimă secreţia de MIF de către limfocitele T activate;
- inhibă funcţia de celulă prezentatoare de antigen a macrofagului (se pare că activarea şi diferenţierea limfocitelor Th-1 induse de antigenul "prezentat" de limfocitele B nu sunt afectate);
- prezintă efecte antiinflamatorii prin: inhibarea sintezei de IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF şi TNF-α de către macrofag şi inhibarea producerii de radicali liberi ai oxigenului şi de derivaţi nitrici, de către macrofag;
- inhibă producţia IL-2 indusă de IFNγ de către celulele NK;
- inhibă exprimarea de IL-4 şi IFNγ - induse a moleculelor MHC de clasă II pe monocite.

Deoarece IL-10 poate fi produsă de LyTh-2 şi inhibă funcţia LyTh-1 prin oprirea producţiei de citokine de către LyTh-1 (cum ar fi, IFNγ), IL-10 este considerată ca un factor reglator încrucişat al celulelor T, fiind chiar denumită şi "*anticitokină*".

IL-10 acţionează, de asemenea, ca un factor de codiferenţiere pentru LyTc şi ca un cofactor pentru creşterea LyT. IL-10 umană (*h IL-10)* este identică în proporţie de 84 % privind succesiunea aminoacizilor, cu o IL-10 virală (*v IL-10*), care este codificată de virusul *Epstein – Barr.*

VIL-10 seamănă cu h IL-10 prin efectele inhibitorii asupra producţiei de citokine şi efectele stimulatorii pe creşterea LyB [280].

Efectul antiinflamator al IL-10 este sinergic cu cel al altor "mediatori supresivi" şi anume cu TGF-beta, antagonistul receptorului IL-1-R (IL-1-RA) şi PGE_2. IL-10 are, deci, două acţiuni importante, şi anume: acţiunea de supresie a răspunsului imun mediat celular şi acţiunea antiinflamatoare.

IL-10 stimulează dezvoltarea celulelor maligne în sarcomul Kaposi/limfoame [59].

Funcţiile IL-10 sunt mediate pe calea receptorilor de suprafaţă (IL-10-R), de la nivelul celulelor ţintă. Inhibarea producţiei de citokine de către clonele de celule Th-1, în prezenţa IL-10, a fost demonstrată prin

neutralizarea activităţii acestei interleukine cu anticorpi monoclonali anti-IL-10.

Interleukina-11 (IL-11) este o citokină de 24 kDa, codificată de o genă localizată pe braţul lung al cromosomului 19. ADNc al IL-11 a fost clonat în anul 1990. Este secretată de LyT şi fibroblaste [80, 123, 280, 281].

Prezintă următoarele **efecte biologice**:

- induce sau creşte răspunsul "proteinelor de fază acută";
- stimulează proliferarea limfocitelor B şi producerea de Ig;
- are efecte sinergice pe hematopoieză şi trombopoieză;
- creşte numărul de plachete;
- induce expresia CD_{4+} la nivelul LyT.

Există date care sugerează că IL-11 poate induce formarea de celule gigante la pacienţii cu sarcoidoză. De asemenea, unele date experimentale sugerează că IL-11 ar stimula proliferarea celulelor leucemice, proliferarea celulelor endoteliale şi ar avea o activitate neurotrofică. Se pare că există un omolog funcţional al IL-11, care produce proliferarea unor linii celulare de plasmocitom şi induce secreţia proteinelor de *"fază acută"* la nivelul ficatului.

Interleukina-12 (IL-12) a fost denumită iniţial *NKSF* sau *CLMF* şi a fost iniţial izolată din culturi celulare cu LyB infectate cu virusul *Epstein-Barr*.

Sursele celulare ale IL-12 sunt: limfocitele B activate, macrofagele şi alte APC. Producţia de IL-12 este inhibată de IL-4 şi IL-10 [72, 80, 100, 239, 280, 281].

IL-12 este un heterodimer alcătuit din două lanţuri proteice glicozilate de 40 kD şi, respectiv, de 35 kD, legate covalent şi codificate de gene separate. Lanţul de 35 kD prezintă conformaţie de alfa-helix şi omologie structurală cu IL-6 şi G-CSF. ADNc ale celor două subunităţi au fost clonate în 1991 [280].

Receptorul pentru IL-12 este o proteină membranară de 110 kD, situat pe limfocitele T activate şi celulele NK.

IL-12 are **efecte** pleiotrope asupra limfocitelor T şi a celulelor NK, astfel:

- stimulează proliferarea şi funcţiile limfocitelor T citotoxice activate şi a celulelor LAK;
- stimulează producţia de IFNgama de către limfocitele Th-1 şi de către celulele NK;
- induce proliferarea limfocitelor Th-1;

Scanned with OKEN Scanner

- suprimă funcţiile limfocitelor Th-2;
- inhibă sinteza de IgE, prin inducerea secreţiei de către limfocitele T a unui inhibitor al sintezei acestor Ig (în acest proces LyT sunt stimulate de IL-4, prin mecanisme dependente şi independente de IFN-γ).

Efectul stimulator al IL-12 pe dezvoltarea LyTh-1 este antagonizat de IL-4, o citokină care promovează dezvoltarea LyTh-2. Se poate, deci, afirma că IL-12 prezintă un rol important în realizarea inflamaţiei mediată celular şi, de asemenea, că această citokină contribuie la reglarea producţiei de Ig.

Expunerea celulelor NK la acţiunea IL-12 creşte răspunsul citotoxic al acestora faţă de celulele tumorale. Alte date arată că, în infecţiile cutanate cu *Leishmania major*, are loc o creştere semnificativă a nivelului de IL-12. Aceasta stimulează producţia de interferon şi activarea celulelor NK, având, deci, un rol major în dezvoltarea imunităţii celulare.

IFNγ şi IL-2 stimulează producţia de IL-12 de către macrofag, în timp ce IL-4, IL-10 şi IL-6 (produse de limfocitele Th-2, mastocite şi macrofage) au un efect inhibitor asupra acesteia.

Interleukina-13 (IL-13) [84, 103, 104, 123, 261, 267, 280, 281] umană, denumită şi factorul *P 600*, este o proteină cu multe proprietăţi similare cu acelea ale IL-4. A.DNc pentru IL-13 a fost recent clonat, iar gena care îi codifică sinteza este localizată pe cromosomul 5 q, deasupra genei pentru IL-4. Gena pentru IL-13 este omologă în proporţie de 25 % cu cea pentru IL-4, explicând similaritatea unor funcţii ale celor două citokine.

IL-13 este o proteină cu GM = 12-17 kDa.

Sursele celulare ale IL-13 sunt reprezentate de limfocitele Th-2.

IL-13 creşte expresia MHC-II pe monocite şi induce exprimarea de $Fc_{epsilon}$-R-II. Inhibă producţia de IL-1alfa, IL-1beta, IL-6, IL-8, IL-12, GM-CSF şi TNFalfa, după activarea cu lipopolizaharide, dar creşte producţia de IL-1-RA.

IL-13 stimulează diferenţierea şi proliferarea LyB, creşte expresia CD_{23} şi induce "stingerea activităţii" IgG şi a IgE [280].

IL-13 stimulează dezvoltarea celulelor maligne în sarcomul Kaposi/limfoame [59].

Aceste date sugerează că IL-13 are ***efecte biologice antiinflamatoare*** şi poate juca un rol important în răspunsul imun.

Scanned with OKEN Scanner

Interleukina 14 (IL-14) [280, 281] este cunoscută şi sub numele de *HMW – BCGF*..

IL-14 este un factor de creştere a celulelor B umane. Are o GM mare (53 kDa).

Surse: IL-14 este produsă de LyB şi LyT maligne, precum şi de LyT normale.

Ca şi IL-4, IL-14 induce proliferarea şi diferenţierea celulelor B, produce dezvoltarea selectivă a unor anumite subpopulaţii de celule B. Pe de altă parte, IL-14 inhibă secreţia de Ig.

Efectele biologice ale IL-14 – sunt mediate preponderent prin intermediul receptorilor situaţi pe celulele B normale şi maligne.

Producţia autocrină şi paracrină de IL-14 poate juca un rol semnificativ în proliferarea rapidă a limfoamelor nehodgkiniene "agresive". Blocarea producerii de IL-14 ar putea constitui o alternativă **terapeutică** pentru pacienţii rezistenţi la chimioterapia convenţională.

Interleukina 15 (IL-15) [280] a fost iniţial identificată în medii cu linii celulare epiteliale din rinichi de maimuţă (CVI/EBNA), cu activitate mitogenică pe liniile celulare T de la rozătoare, CTLL-2.

IL-15 a fost, de asemenea, descoperită independent ca o citokină umană (la adult), produsă de o linie de celule T leucemice (Hu T-102), care stimulează proliferarea celulelor T, fiind denumită ***IL-T***.

Surse celulare: monocite activate, celule epiteliale, fibroblaste, LyT.

Este o citokină cu GM de aproximativ 15 kDa.

ADNc al IL-15 de om, maimuţă şi şoarece codifică un precursor de 162 aminoacizi, conţinând un segment iniţial de 48 aminoacizi, care este clivat pentru a genera segmentul matur al IL-15, cu 114 aminoacizi.

Secvenţa de aminoacizi a IL-15 umane este identică în proporţie de 97 % cu cea a IL-15 de maimuţă şi în proporţie de 73 % cu cea a IL-15 de şoarece.

Atât IL-15 de om, cât şi cea de maimuţă sunt active pe celulele de şoarece.

Deşi structura spaţială a IL-15 nu a fost determinată, se presupune că ea este asemănătoare cu cea a IL-2.

Multe din efectele biologice ale IL-15 sunt mediate prin intermediul IL-2, prin intermediul unor multiple subunităţi cu o înaltă afinitate pentru receptor, conţinute într-un lanţ α unic şi lanţuri β şi γ ale IL-2R. Gena umană pentru IL-15 a fost localizată pe cromosomul 4, în mod similar cu

Scanned with OKEN Scanner

gena pentru IL-2. Pe de altă parte, s-a constatat că IL-15 nu prezintă nici o secvență omologă cu IL-2.

Receptorii de suprafață cu o înaltă afinitate pentru IL-15 sunt prezenți pe LyT şi LyB, precum şi pe celule nelimfoide. S-a demonstrat că sunt necesare în structura complexului receptor subunitățile β şi γ comune cu subunitățile IL-2, pentru realizarea unei bune transmiteri a semnalului biologic postreceptor şi pentru o eficientă internalizare a complexului IL-15 – receptor IL-15 (*IL-15R*). Recent, a fost clonată şi caracterizată o nouă proteină specifică de legare a IL-15 de şoarece (*IL-15Rα*), care este structural asemănătoare cu subunitatea α a receptorilor cu afinitate crescută pentru IL-2.

IL-15Rα prezintă similarități structurale cu IL-2Rα şi ambele proteine conțin "domenii" ce se repetă. În timp ce, atât IL-15 umană, cât şi cea de maimuță se pot lega la un complex al subunităților comune β şi γ umane, în absența subunității IL-15Rα de şoarece, IL-15 de maimuță nu este capabilă să transmită semnalul biologic numai prin intermediul complexului β şi γ de şoarece.

Receptorul uman solubil IL2Rβ leagă IL-15 umană cu o afinitate suficient de mare, astfel încât poate fi considerat un excelent antagonist al IL-15.

ARNm al IL-15 a fost detectat într-un număr de țesuturi umane şi de tipuri celulare şi anume: cordul, plămânul, ficatul, placenta, muşchiul scheletic, celulele mononucleare din sângele periferic, linii de celule epiteliale şi de fibroblaste.

ARNm al IL-15 nu se găseşte însă în LyT activate din sângele periferic, care conțin niveluri înalte de ARNm pentru IL-2. Deşi se găseşte la niveluri crescute în celulele mononucleare aderente din sângele periferic, ARNm al IL-15 nu este detectabil în supernatantul din cultură (utilizând tehnici cu sensibilitate crescută: ELISA).

Efectele biologice ale IL-15 sunt următoarele [280]:

- stimulează proliferarea celulelor NK;
- stimulează activitatea CTL, LAK, TIL şi a LyB;
- induce activarea LAK, NK, LyTh-1;
- creşte expansiunea şi producția de Ig de către LyB;
- prezintă efecte chemoatractante pentru LyT din sângele uman;
- este responsabilă de recrutarea şi activarea LyT în sinoviala pacienților cu artrită reumatoidă.

Datorită activității sale de stimulator al LyT, al celulelor NK, LAK şi TIL, IL-2 este curent testată **clinic** pentru potențialul său terapeutic în

Scanned with OKEN Scanner

neoplazii şi infecţii virale. Deoarece acţiunile sale biologice sunt similare cu ale IL-2, IL-15 ar putea avea şi un potenţial terapeutic similar.

***Interleukina 16* (IL-16)**, membră a familiei "**C**" de chemokine, este cunoscută şi sub denumirile de l*imfotactină* sau *LCF* şi a fost descrisă pentru prima oară în 1982, de către Dr. D. Center şi Dr. W. Cruikshank (Centrul Pulmonar de la Universitatea de Medicină din Boston) [59, 70, 280]. Denumită iniţial *"factor antiviral al celulelor T* CD_{8+} *(CAF)*, de către Dr. J.A. Levy [70], datorită capacităţii sale de a inhiba replicarea HIV, s-a constatat ulterior că această citokină poate inhiba atât replicarea HIV în celulele albe din sângele periferic uman, cât şi replicarea virusului imunodeficienţei la maimuţe (SIV) [Dr. Michael Baier, citat bibl.70] şi produce chemotaxia LyT_{h-1}.

Surse. IL-16 este produsă de LyT CD_{8+}.

Gena care codifică IL-16 este localizată pe cromosomul 1 uman [280]. IL-16 este o citokină "neobişnuită", în sensul că IL-16 există preformată şi depozitată în limfocitele CD_{8+} şi este secretată după stimularea cu Histamină sau Serotonină. Ea induce chemotaxia LyT CD_{4+} şi are rol în iniţierea LyT pentru medierea inflamaţiei în astm.

Structural prezintă 130 aminoacizi. Fragmentul N-terminal, format din 28 aminoacizi prezintă activitate chemotactică. Domeniile IL-16 cu rol modulator sunt denumite domenii "PDZ-like" şi au structuri similare cu proteinele intracelulare modulatoare, dar nu prezintă proprietăţile de legare a peptidelor pe care le au domeniile PDZ intracelulare. Acest lucru este datorat alterării structurii la nivelul situsurilor "PDZ-like" ale IL-16 (fragmentul GLGF). Fragmentul GLGF al IL-16 este mult mai mic decât cel al domeniilor PDZ şi, în plus, este blocat cu un lanţ secundar de triptofan în centru. Date experimentale indică, de asemenea, că nu este necesară agregarea IL-16 sub forma unei proteine homotetramerice pentru a-şi exercita efectele sale chemoatractante pentru LyT.

Efecte biologice. Asocierea IL-16 cu IL-2 produce creşterea nivelului de LyT. Interesul ştiinţific pentru IL-16 a crescut după observarea faptului că această citokină blochează pe termen lung progresia infecţiei HIV, pacienţii respectivi prezentând un număr mare de celule CD_{8+} (cunoscute şi sub numele de LyT "ucigaşe"). Aceste celule CD_{8+} sunt cunoscute pentru proprietatea lor citotoxică faţă de unele celule neoplazice şi faţă de unele celule infectate viral. La pacienţii cu infecţie HIV, celulele CD_{8+} sunt reactive faţă de celulele infectate. În plus, celulele CD_{8+} produc IL-16 şi alte chemokine (RANTES şi MIP-1α), care blochează infectarea cu HIV [Dr. R.

Scanned with OKEN Scanner

Gallo, citat bibl. 70]. IL-16 atrage LyT CD_{4+} la locul de lezare tisulară sau în ţesutul infectat. IL-16 se leagă la molecula CD_{4+}, care este utilizată de HIV pentru a intra în celulele T. Astfel, tratamentul cu IL-16 induce la nivelul LyT CD_{4+} expresia receptorilor care leagă IL-2. Fără aceşti receptori, celulele T nu răspund la tratamentul cu IL-2.

Datele experimentale demonstrează, de asemenea, că IL-16 acţionează şi în sensul prevenirii replicării HIV în celulele infectate. Această citokină induce în LyT semnalul intracelular, care blochează activarea genelor HIV [Dr. Joseph Maciaszek şi colab., citaţi bibl. 70].

Cercetările de bioinginerie genetică au conectat o genă "reporter" la o piesă a ADN din HIV, care reglează expresia genei HIV. Gena "reporter" produce o enzimă inofensivă, denumită CAT, care poate fi măsurată prin teste speciale. Când această genă "reporter" conectată la o piesă a ADN-HIV este exprimată în interiorul LyT CD_{4+}, cercetătorii pot urmări expresia genei HIV, prin determinarea producţiei de enzimă CAT de către celulele respective; un nivel mai mare de CAT conduce la ipoteza că producţia de AND-HIV a fost indusă. Cercetătorii au demonstrat că tratamentele cu IL-16 previn producţia enzimei CAT, arătând, astfel, că s-a inhibat activarea genelor HIV. Aceste date constituie un argument împotriva ipotezelor că tratamentele cu IL-16 blochează HIV prin simpla inhibare a ataşării sale la CD_4 şi a intrării sale în celulele T.

Maciaszek J. şi colab. au demonstrat, astfel, că utilizarea asocierii IL-2 cu IL-16 poate produce creşterea numărului de LyT, fără creşterea încărcăturii virale HIV. Acest efect este evident numai atunci cînd cele două citokine acţionează împreună şi nu se produce în cazul monoterapiei cu IL-2, respectiv IL-16. Datele obţinute se află în faza testării *in vitro* , pe culturi celulare [70]. IL-2 determină creşterea şi diviziunea LyT, dar monoterapia cu această citokină nu a dat rezultate spectaculoase, inducând numai o modestă creştere a numărului total de LyT, alături de o creştere semnificativă a încărcăturii virale.

Cunoscută şi sub numele de **LCF**, IL-16 stimulează răspunsul migrator al LyT CD_{4+} şi al monocitelor CD_{4+}, precum şi al eozinofilelor. IL-16 umană induce expresia receptorului IL-2 la nivelul LyT. Are o greutate moleculară de 13,5 kDa, conţinând 130 fragmente de aminoacizi.

De dată relativ recentă este obţinerea **IL-16 umane recombinante**. Sursa de obţinere a acestui produs este *E. coli*.

Puritatea produsului este 98 % (analize SDS-Page şi HPLC). Nivelul endotoxinic este mai mic de 0,1 ng/micrograme (1 EU/microgram) de IL-16.

Scanned with OKEN Scanner

Produsul este liofilizat, steril, filtrat, cu 1,0 mg proteine/ml; liofilizatul este folosit pentru prepararea de soluție cu tampon fosfat salin (1 x tampon fosfat salin).

Pentru prepararea soluției, liofilizatul proteic este solvit în apă, până se aduce la o concentrație de 1 microgram/microlitru. Se recomandă ca diluțiile ce se fac în continuare să se realizeze cu tampon fosfat salin + ser. *In vitro,* IL-16 își exercită acțiunea la o concentrație de cel puțin 0,1 ng/ml, până la 20 ng/ml.

Pulberea de liofilizat este stabilă la temperatura camerei, fiind cel mai bine depozitată în mediul uscat, la 0^0 C.

IL-16 în soluție trebuie păstrată la -20^0 C.

Efectele biologice ale acestui produs constau în creşterea chemotaxiei LyT CD_{4+}, producându-se la o concentrație de 1,4 ng/ml.

Interleukina 17 (IL-17), denumită inițial *CTLA-8*, este o glicoproteină de 20 kDa, care se leagă la receptori specifici şi reglează producția unor citokine, fiind diferită de moleculele CTLA-1, 2, 3, 4, 5, 6 şi 7 [280, 281].

CTLA-1, 3, 5, 6 şi 7 sunt serin-proteaze, CTLA-2 (formele α şi β) este o cistein-protează, CTLA-4 reprezintă unul din cei doi receptori membranari pentru B_7 (CD_{80} şi CD_{86}).

IL-17 a fost inițial clonată din hibridoame de LyT, produse prin fuziunea unei clone de LyTc de şoarece şi LyT din limfom de şobolan. Factorul izolat din aceste celule a fost obținut din LyTc de şoarece şi a fost denumit proteina *CTLA-8*.

Studii ulterioare au demonstrat că acest factor conține şi secvențe derivate din limfomul de şobolan, fiind denumit *misnomer.*

CTLA-8 echivalent uman a fost clonat pe baza omologului său de la rozătoare, folosind *Herpesvirus saimiri.* În plus, au fost clonate IL-17 de şoarece şi de şobolan.

Sursa majoră de IL-17 este reprezentată de LyT, în special LyT CD_{4+}activate, cu memorie. Studii recente au sugerat o expresie diferită şi mult mai restrânsă la şoarece. Expresia IL-17 la şoarece, la nivelul variatelor LyT activate, ar putea fi detectată numai prin utilizarea analizelor PCR. Utilizând analiza Northern numai la un subset de LyT, LyT $\alpha\beta TCR^+$ CD_4^- CD_8^-, s-a găsit expresia IL-17 la niveluri fiziologice semnificative. Aceste celule sunt mai întâi activate în timpul răspunsurilor imune şi sunt capabile să producă în cantități mari, citokine, caracteristice răspunsurilor LyTh-2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13), ca şi factorii în mod obişnuit asociați cu LyT

Scanned with OKEN Scanner

CD_{8+} (IFNγ, TNFβ, RANTES, gramzima B şi ligandul Fas). Deşi aceste rezultate sugerează că IL-17 nu este exprimată de o varietate mare de tipuri de celule, este posibil ca şi alte celule să exprime niveluri mai înalte de IL-17 atunci când sunt condiţii de activare ale acestora [281]. Astfel, se poate sugera că IL-17 joacă un rol important în stadiile precoce ale RI.

Structural, IL-17 umană este un polipeptid homodimeric de 20-30 kDa, variabil glicozilat, secretat de LyT CD_{4+} activate cu memorie ($CD_{45+}RO^{+}$). ADNc al IL-17 umane a fost clonat în 1995, pe baza omologului său de şoarece, CTLA-8.

Gena pentru IL-17 umană codifică 155 aminoacizi, din care 19 aminoacizi au rol în transmiterea semnalului biologic postreceptor, iar 136 aminoacizi constituie segmentul matur al IL-17. În polipeptidul matur există 6 fragmente de cisteină şi unul potenţial asemănător cu situsul "N" glicozilat. Dimerizarea este obţinută prin intermediul punţilor intermoleculare de cisteină.

IL-17 de şobolan are 150 aminoacizi, cu un fragment cu rol de transmitere a semnalului postreceptor de 13 aminoacizi şi un polipeptid matur de 137 aminoacizi.

IL-17 de şoarece este un polipeptid de 158 aminoacizi, cu un fragment de transmitere a semnalului postreceptor de 21 aminoacizi şi un polipeptid matur de 137 aminoacizi.

Identitatea secvenţelor de aminoacizi între IL-17 de şoarece şi cea de şobolan este de 87,3 %. IL-17 umană prezintă o identitate a secvenţelor de aminoacizi de 62,5 % cu cea de şoarece şi, respectiv, de 58 % cu cea de şobolan.

Secvenţa de aminoacizi a IL-17 prezintă o analogie remarcabilă cu secvenţa de aminoacizi a *Herpesvirus saimiri (HVS)*, virus care produce o afecţiune severă limfoproliferativă la primate, în proporţie de 57 % cu IL-17 de şobolan şi de 72 % cu IL-17 la om.

Această mare asemănare între secvenţele IL-17 umane şi cele ale IL-17 virale a sugerat ipoteza că virusul, în timp, "înlocuieşte" un segment din gena umană pentru IL-17, având astfel avantajul supravieţuirii virusului în timpul infecţiei naturale. "Comanda" pentru gena citokinei umane prin intermediul virusurilor nu este cunoscută. Alte "încorporări" include: codarea unui tip I solubil de receptor pentru TNF, prin intermediul unui virus implicat în etiologia fibromului Shope la iepure, existenţa unui tip II solubil de receptor pentru IL-1 la virusul vaccinei, prezenţa unei IL-10 omologe la virusul uman *Epstein – Barr* şi un potenţial pentru sinteza unui receptor pentru chemokină prin intermediul aceluiaşi *HSV*. Avantajul pe

Scanned with OKEN Scanner

care îl prezintă o citokină virală drept ligant sau o genă receptor poate consta în promovarea supraviețuirii lor printr-o simplă trecere de la "virus persistent" la "virus eliminat". De exemplu, când receptorul II solubil pentru IL-1 al virusului vaccinei, care leagă şi neutralizează numai IL-1β, este supus unei deleţii experimentale, simptomele clinice ale animalelor infectate cu acest mutant al virusului vaccinei încep să fie mult mai severe, decât la animalele care posedă receptorul solubil. Aceasta sugerează că, în asemenea cazuri, "succesul" virusului este cel mai bine garantat prin limitarea secundară inflamator-indusă, în ţesuturile gazdei.

Receptorii cu înaltă afinitate pentru IL-17. A fost izolat un receptor pentru IL-17 din celulele de timom EL 4 de şoarece, cu o GM de aproximativ 120 kDa. Receptorul matur este o glicoproteină tip I transmembranară cu un lanţ de 833 aminoacizi, cu un segment extracelular de 291 aminoacizi , un domeniu transmembranar de 21 aminoacizi şi o regiune citoplasmatică de 521 aminoacizi. Segmentul extracelular conţine 8 situsuri N-glicozilate plus 12 cisteinice, nici unul cu domenii pentru Ig. Receptorul nu aparţine familiei de receptori NGF-R/TNF-R, iar regiunea extracelulară nu prezintă o structură ternară care să menţină segmentul WSXWS, caracteristică a receptorilor hematopoietinici. Regiunea citoplasmatică a acestor receptori nu conţine tirozin-kinaze. Există la acest nivel, însă, porţiuni acidice şi bogate în serină, care sunt similare regiunilor găsite în lanţul IL-2Rβ al receptorului pentru IL-2, la nivelul receptorilor IL-4R şi G-CSF-R. Toate acestea, alături de un segment membranar proximal de 11 aminoacizi, sugerează că receptorul pentru IL-17 prezintă unele caracteristici care sunt reprezentative pentru receptorii de clasă I ai citokinelor.

Liniile celulare care exprimă IL-17 R sunt: celulele T de timom EL 4, hepatocitele fetale D11, fibroblastele 3T3, mastocitele H7, celulele pre-B 70Z/3, celulele musculare BB4 şi celulele epiteliale intestinale 1EC6.

IL-17R de şoarece prezintă afinitate pentru IL-17 de şobolan şi IL-17 umană.

Efectele biologice ale IL-17 include stimularea producţiei de IL-6 şi IL-8 şi creşterea expresiei ICAM-1 umane la nivelul fibroblastelor.

IL-17 este un "vehicul" major prin intermediul căruia LyT realizează comunicarea cu sistemul hematopoietic. În mod particular, fibroblastele, când sunt cultivaţi în prezenţa IL-17, potenţează celulele progenitoare hematopoietice CD_{34+} şi maturarea lor directă spre neutrofile. Mecanismele exacte prin care IL-17 este implicată în aceste procese nu sunt clare. S-a demonstrat, totuşi, că IL-17 induce producţia de IL-6, IL-8 şi G-CSF de

Scanned with OKEN Scanner

către fibroblaste (şi endoteliu), iar aceste trei citokine prezintă impact cu hematopoieza. IL-6, de exemplu, induce celulele progenitoare hematopoietice din coloniile de granulocite/macrofage, în timp ce G-CSF, atât *in vitro*, cât şi *in vivo*, accelerează formarea neutrofilelor. IL-8 produce "down"-reglarea efectelor citokinelor promotoare ale mielopoiezei, sugerându-se, astfel, că IL-17 prezintă "impact" final cu toate fazele generale ale răspunsului hematopoietic. Astfel, se pare că IL-17 poate fi considerată cea mai nouă citokină hematopoietică produsă de LyT, împreună cu IL-3, IL-4, IL-5 şi GM-CSF, cu rol fie de reglatori, fie de co-reglatori ai hematopoiezei [281].

Interleukina 18 (IL-18), cunoscută şi ca *IGIF*, este o nouă moleculă adăugată pe lista – destul de scurtă – a reglatorilor de IFN-γ. Moleculele care intervin direct în inducerea expresiei IFN-γ sunt reprezentate de IL-12, TNF-α şi IL-2 [100, 260, 280, 281].

IL-18 a fost iniţial descrisă ca IGIF, fiind identificată ca inductor al IFN-γ în celulele Kuppfer şi macrofagele activate de şoarece.S-a constatat că IGIF induce producţia de IFN-γ mult mai puternic decât IL-12 şi este implicat în dezvoltarea LyTh-1.

Omologul uman al IGIF de şoarece a fost recent descris şi prezintă funcţii similare cu cele determinate de IGIF de şoarece, privind stimularea producţiei de IFN-γ de către celulele mononucleare din sângele periferic IGIF uman determină creşterea citotoxicităţii celulelor NK, creşte producţia de GM-CSF şi scade producţia de IL-10. S-a propus ulterior ca IGIF să fie desemnat drept IL-18.

Reglarea sintezei IFN-γ este unul dintre cele mai puternic controlate procese ale RI. Producţia IFN-γ, o glicoproteină homodimerică de 34 KDa este în mod special restrânsă la LyTh-1 CD_{4+}, LyT CD_{8+} şi celulele NK. Pentru fiecare tip celular, secreţia IFN-γ este limitată de disponibilitatea citokinelor inductoare ale IFN-γ, cum ar fi: IL-12 şi TNFα, care sunt produse de celulele accesorii după activare. Unul dintre cele mai importante rezultate ale secreţiei IFN-γ este activarea macrofagelor. Aceasta este realizată prin inducerea radicalilor liberi de oxigen şi de oxid nitric, ce activează o varietate de răspunsuri antibacteriene, antitumorale şi antivirale. În plus, IFN-γ contribuie la activarea celulei endoteliale, dezvoltarea LyTh-1 şi "up"-reglarea expresiei MHC, atât pe APC specifice, cât şi pe APC nespecifice. Aceasta produce reglarea IFN-γ, o treaptă extrem de importantă în cadrul schemei generale a unui răspuns inflamator.

Scanned with OKEN Scanner

Sursele de IL-18 sunt reprezentate de: macrofage, celule Kuppfer, keratinocite, celulele corticosuprarenalei secretoare de GCS şi osteoblastele.

Structura IL-18. IL-18 are o GM de 24 kDa şi este un polipeptid neglicozilat, care nu prezintă o secvenţă clasică pentru inducerea semnalului postrec şi posedă o structură de recunoaştere similară cu cea a IL-1.

IL-18 este sintetizată ca un propeptid inactiv biologic, care, în urma clivării proteolitice, fie prin intermediul enzimei de conversie a IL-1β (ICE), fie sub acţiunea altei caspaze, devine o moleculă matură, bioactivă, de 18 kDa. Clivajul în cadrul celor 193 aminoacizi ai propeptidului se realizează în poziţia Asp – 36 la IL-18 umană şi după Asp – 35 la şoarece. Atât IL-18 matură, cât şi forma de propeptid prezintă o identitate de 64 % la om şi la şoarece. IL-18 nu prezintă nici o similaritate a secvenţei primare de aminoacizi cu alte citokine cunoscute.

A fost izolată, de asemenea, IL-18 la şobolan, având un lanţ de 194 aminoacizi în lungime, prezentând în proporţie de 91 % identitate cu secvenţa aminoacizilor la IL-18 de şoarece. De notat este faptul că gena IL-18 de şobolan prezintă şi o alternativă mai scurtă, cu 175 aminoacizi.

IL-18 prezintă specificitate de specie.

Receptorii pentru IL-18. Complexul receptor pentru IL-18 nu a fost încă definit. Se sugerează că porţiunea de pe acest receptor care leagă IL-18 este *IL-1Rrp*. Această proteină "receptor-like", căreia iniţial nu I s-a cunoscut ligandul, a fost clonată pe baza similarităţii sale cu receptorul tip I al IL-1 şi a omologilor săi T1/ST_2 şi IL-1R AcP.

Efecte biologice. IL-18 este un puternic inductor al producţiei de IFN-γ de către celulele T şi celulele NK. Fie independent, fie în sinergie cu IL-12, efectele IL-18, prin inducerea IFN-γ, pot conduce la o activare rapidă a sistemului monocite/macrofage cu o "up"-reglare a acestor celule ale SI.

Producerea de IL-18 însăşi este indusă de stimuli de tipul bacteriilor sau al stresului. În acest context, s-a sugerat că eliberarea indusă de stres a IL-18 poate conduce la o reîntărire a stimulării ciclului de producţie IFN-γ/IL-18.

După o producţie iniţială de IFN-γ indusă de IL-18, IFN-γ secretat poate stimula, la rândul său, sistemul monocite/macrofage pentru a creşte activitatea ICE. În prezenţa unei producţii continue de IL-18, activitatea crescută a ICE determină o secreţie mai puternică a IL-18, care conduce la o producţie mai mare de IFN-γ de către limfocite, ceea ce conduce la o activitate mai mare a ICE macrofagice.Astfel, IL-18 nu numai că promovează sinteza de IFN-γ, dar, de asemenea, participă şi la realizarea mai departe a acţiunilor acestuia.

Scanned with OKEN Scanner

IL-18 a fost de asemenea implicată în acţiunea "cidă" mediată de ligandul Fas (Fas L). Fas L este un membru de 40 kDa al superfamiliei de molecule din grupul TNF.

Prin legarea Fas L la receptorii săi este comandat programul apoptotic pentru celulele care prezintă receptori pentru Fas L. La SI al adultului, acest rezultat este adesea utilizat pentru a elimina celulele "nedorite" care pot interfera fie cu un proces imun, fie cu o reacţie imună aflate în curs de desfăşurare. Celulele despre care se consideră că mediază fiecare din aceste acţiuni sunt LyTh-1 CD_{4+} şi celulele NK, două populaţii celulare care exprimă Fas L sub acţiunea IL-18. IFN-γ este un "up"-reglator al exprimării antigenului Fas. IL-18 determină "up"-reglarea atât pentru producţia de Fas L, cât şi pentru producţia de IFN-γ la nivelul celulelor T, iar producţia de IFN-γ ar putea induce Ag Fas pe o varietate de tipuri celulare. Astfel, IL-18, pe calea inducerii IFN-γ, ar putea fi considerată o moleculă care reglează atât Fas L, cât şi oportunitatea Fas pentru inducerea apoptozei celulare.

- ***FACTORII DE NECROZĂ TUMORALĂ***

Grupul factorilor de necroză tumorală (TNF) cuprinde două proteine înrudite: TNF-α (caşectină) şi TNF-β (limfotoxină), denumite astfel pe baza proprietăţii de a produce infarctizări şi necroză hemoragică la nivelul tumorilor [59, 80, 114, 153, 280].

TNF α şi β sunt sintetizate ca proteine neglicozilate precursoare, de 25 kD. Sinteza acestora este codificată de gene situate pe braţul scurt al cromozomului 6. Forma precursor a TNF este exprimată membranar, iar proteoliza enzimatică anterioară secreţiei scindează un fragment de 17 kD (79 aminoacizi) la nivelul capătului carboxi-terminal, care constituie forma matură solubilă. Acesta apare în circulaţie ca homotrimer stabil, de 51 kD.

S-au identificat două tipuri distincte de receptori de înaltă afinitate pentru TNF uman şi anume TNF-RI şi TNF-R II. Structura receptorilor a fost precizată de Brockhans şi Loetscher (1990) prin clonare moleculară. Exprimarea genelor codificatoare şi anticorpii monoclonali TNF-R I şi TNF-R II sunt distincte structural şi antigenic, au afinităţi diferite pentru acelaşi ligand şi mecanisme de semnalizare diferite. Au distribuţie asemănătoare ca tip celular şi densitate cuprinsă între 1000 şi 10000 receptori/celulă. Segmentul extracelular este organizat în 4 domenii bogate în cisteină şi legate prin punţi disulfurice. Fiecare tip de receptor se poate prezenta ca monomer cu afinitate scăzută pentru ligand sau ca trimer cu afinitate crescută.

Scanned with OKEN Scanner

Conform datelor din literarură este propus ca mecanism de activare a TNF-R modelul de "agregare a formelor monomer" la nivelul domeniilor extracelulare juxtamembranare şi la nivelul segmentelor intracelulare. Agregarea este un proces care depinde de flexibilitatea segmentului extracelular. Agregarea tipului II de receptor este mult mai rapidă, pentru că între ultimul domeniu extracelular şi segmentul transmembranar există o secvenţă lungă, de 55 aminoacizi, care conferă structurii o flexibilitate mare ce favorizează agregarea moleculară. Tipul I de receptor are o secvenţă scurtă de aminoacizi în această regiune, din care cauză flexibilitatea structurii este mai redusă, iar agregarea mai dificilă.

În ser şi alte lichide biologice au fost identificate formele solubile: TNF-R Is şi TNF-R IIs. Din punct de vedere structural aceşti receptori sunt proteine fragmentate din segmentul extracelular al receptorilor membranari, care pot agrega în forme trimer pentru a forma complexe stabile cu TNF circulant. Receptorii solubili modulează activitatea TNF în cadrul răspunsului inflamator şi inhibă efectul de stimulare a producţiei de PGE_2 şi colagenaze.

Segmentele intracelulare ale receptorilor membranari prezintă secvenţe individuale de aminoacizi care determină mecanisme diferite de transmitere intracelulară a semnalului biologic.

Segmentul intracelular al receptorului TNF-R I transmite semnalul biologic prin activarea fosfolipazei C membranare şi a tirozin-kinazei şi prezintă o secvenţă specifică de aminoacizi ("Thr-Pro-Arg") cu rol în activarea proteinkinazei C, în timp ce segmentul intracelular al receptorului TNF-R II prezintă două situsuri potenţiale de activare a proteinkinazei C, reprezentate de o secvenţă care include de 6 ori cisteina şi, respectiv, de secvenţa "Ser-Pro-Lys".

Se consideră că fixarea TNF pe TNF-R II nu este suficientă pentru declanşarea răspunsului biologic. Deşi tipul I are afinitate de legare mai mică, are rolul principal în exercitarea efectelor biologice ale TNF asupra celulelor ţintă. Acţiunea TNF se consideră completă dacă se exercită simultan pe ambele tipuri de receptori de pe celula ţintă.

Sursele celulare ale TNFα sunt reprezentate de: celulele mononuclear-fagocitare, limfocitele T-antigen activate, celulele NK şi LAK, neutrofile, mastocite, celule endoteliale, astrocite, limfocitele B, iar sursele celulare pentru TNFβ sunt reprezentate de limfocitele Th-1 activate.

Celulele ţintă ale TNF sunt: neutrofilele, eozinofilele, limfocitele T, limfocitele B, macrofagele, celulele endoteliale, osteoblastele, osteoclastele, condrocitele, adipocitele, fibroblastele, celulele sinoviale, hepatocitele,

Scanned with OKEN Scanner

celulele glandei corticosuprarenale, neuronii din unele zone ale SNC, celulele tumorale.

TNF prezintă următoarele **efecte biologice**:

1) la nivelul limfocitelor T:

- costimulează activarea limfocitelor T;
- induce sinteza receptorilor pentru IL-2 şi a receptorilor pentru IFN-γ;
- induce producţia de limfokine: IFN, CSF, IL-4, IL-5, IL-2.

2) la nivelul limfocitelor B:

- promovează proliferarea limfocitelor B direct şi indirect, prin intermediul IL-2 şi a IL-4, secretate de limfocitele T activate;
- creşte expresia Ig membranare şi producţia de anticorpi circulanţi.

3) la nivelul monocitelor şi macrofagelor:

- este un factor chemotactic slab pentru monocite/macrofage;
- creşte capacitatea citotoxică a mononuclearelor activate în cursul inflamaţiei;
- induce producţia de: IL-1, IL-6, GM-CSF, IFN, chemokine.

4) la nivelul neutrofilelor:

- stimulează activarea neutrofilelor;
- stimulează producţia de: IL-1, IL-6, IL-8;

5) la nivelul celulelor endoteliale şi a celulelor netede vasculare:

- creşte adezivitatea pentru leucocite (sintezele ICAM/ELAM);
- stimulează secreţia factorilor stimulatori de colonii (în special GM-CSF);
- stimulează secreţia de PGE_2, prostacicline şi de factor de activare plachetară;
- stimulează activitatea factorului tisular;
- reduce activitatea trombomodulinei;
- reduce secreţia tPA;
- creşte secreţia PAI;
- eliberează PDGF;
- stimulează secreţia de IL-1 şi TNF;
- induce mitogeneze şi angiogeneze.

6) la nivelul celulelor hematopoietice:

- inhibă unii precursori ai creşterii şi ai diferenţierii.

7) la nivelul hepatocitelor:

- TNFα (alături de IL-6 şi IL-11) induce producţia unor "proteine de fază acută": fracţia C3 a complementului, haptoglobina, proteina

Scanned with OKEN Scanner

C reactivă, α1-glicoproteina acidă, factorul B, proteinele serice amiloide A şi P;

- scade citocromul P_{450};
- creşte nivelul plasmatic al cuprului şi scade nivelurile plasmatice ale fierului şi zincului.

8) la nivel neuroendocrin: stimulează secreţia de glucocorticoizi prin creşterea secreţiei de CRF, induce febra, induce somnolenţa şi anorexia, induce hipoalgezia.

9) la nivelul osteoblastelor: scade fosfataza alcalină.

10) la nivelul osteoclastelor: creşte rezorbţia osoasă şi activitatea colagenazei.

11) la nivelul condrocitelor: creşte turnover-ul cartilajului.

12) la nivelul fibroblastelor şi al celulelor sinoviale: induce colagenaza, chemokinele, PDGF, IL-6, IL-8, TNF, GM-CSF, PGE_2.

13) la nivelul adipocitelor: scade lipoproteinlipaza, creşte lipoliza.

14) la nivelul celulelor tumorale: are efecte citostatice şi citolitice.

15) efecte antivirale: prezintă efecte antivirale indirecte, prin creşterea secreţiei de IFNβ.

16) TNF-α stimulează *in vitro* replicarea HIV; este implicat în patogenia encefalopatiei şi a caşexiei din cursul infecţiilor cu HIV; poate fi considerat factor favorizant în producerea infecţiilor cu germeni oportunişti din cursul evoluţiei infecţiei HIV [59].

TNF-α poate induce febră, fie direct, prin stimularea sintezei de PGE_2 de către endoteliul vascular al hipotalamusului, fie indirect, prin inducerea eliberării de IL-1. Ambele citokine pot stimula producţia colagenazei şi a PGE_2 de către celulele sinoviale şi, astfel, contribuie la realizarea leziunilor inflamatorii articulare, cum ar fi, artrita reumatoidă [280].

Prin stimularea sintezei de IL-6 de către diferite tipuri celulare, TNFα exercită indirect efecte inflamatorii. IL-6 mediază direct şi, prin intermediul TNFα şi al IL-1, inducerea febrei şi a răspunsului de "fază acută" , prin aceasta perpetuând răspunsul inflamator printr-o "cascadă" de citokine a căror producţie este declanşată în serie.

TNF-β (cunoscut şi sub numele de *limfotoxină*) este produs de LyT şi de LyB activate. Se leagă cu o afinitate crescută la receptorii pentru TNF-α. Proprietăţile sale sunt similare cu acelea ale TNF-α şi include: inducerea apoptozei la multe tipuri de celule transformate (prin infectarea virală, celule tumorale) şi stimularea unor funcţii ale PMN efectoare.

Deşi, în general, efectele citokine sunt exercitate local, la situsul de producere a lor (autocrin şi paracrin), TNFα şi TNF-β, precum şi IL-1 şi

Scanned with OKEN Scanner

IL-6 au efecte sistemice majore (endocrine), fie atunci când sunt produse acut, în concentraţii crescute, cum este cazul sepsisului bacterian, fie atunci când sunt produse cronic, în concentraţii mai mici, ca în cazul infecţiilor cronice.

În cursul sepsis cu microorganisme gram negative, hipopolizaharidele (endotoxinele) eliberate de către bacteriile implicate în etiologie determină creşterea producţiei de TNFα (şi, consecutiv, producţia de IL-1 şi IL-6) de către macrofage.Eliberarea sistemică a acestor citokine este considerată responsabilă de febra şi hipotensiunea arterială, care caracterizează şocul septic. În mod analog, producţia unor concentraţii crescute de TNFβ de către LyT în răspunsul la "super Ag" (cum ar fi, sindromul şocului toxic stafilococic cu toxine şi enterotoxine) este responsabilă pentru multe manifestări sistemice (febră, hipotensiune arterială) ale infecţiei cu organisme gram pozitive producătoare de toxine.

În plus, producţia cronică de TNF este responsabilă pentru alterările metabolice care conduc la caşexia asociată cu infecţiile parazitare cronice şi cu unele tipuri de neoplazii.

Receptorii solubili pentru TNF (TNF-RIs şi TNF-RIIs) anulează efectul citokinelor cu rol în declanşarea febrei şi a şocului septic. Dozarea TNF şi a antagoniştilor acestora în plasma pacienţilor cu endotoxemie, artrite reumatoide şi alte infecţii şi inflamaţii cronice a arătat o creştere a concentraţiei plasmatice a antagoniştilor TNF. În plasma şi lichidul sinovial al acestor pacienţi se găsesc şi concentraţii crescute de IL-1-R IIs.

În practica medicală prezintă interes terapeutic antagoniştii TNF care, la fel ca antagoniştii IL-1, pot ameliora bolile inflamatorii cronice. Pe modele animale, antagoniştii TNF s-au dovedit eficienţi în tratamentul unor afecţiuni cum ar fi: şocul septic, artritele experimentale, colitele ulcerative cu complexe imune, diabetul.

În stadii experimentale se află următorii compuşi, inhibitori ai secreţiei de TNF:

- ***Anthralin (Dithranol)***: inhibă secreţia de TNF, IL-6 şi IL-8; nu influenţează sinteza sau eliberarea de IL-1.
- ***R 167 653***: inhibă producţia de TNF şi IL-1; nu influenţează sinteza sau eliberarea de IL-6.
- ***IFN-β-Ib (Betaseron)***: scade secreţia de TNF, dar stimulează secreţia de IL-6.

Studiile din fazele I-II ale experimentului clinic au confirmat datele experimentale. Datele preliminare din faza a II-a a experimentului clinic, cu

Scanned with OKEN Scanner

anticorpi monoclonali anti-TNF, sugerează că aceşti anticorpi pot fi eficienţi în tratamentul şocului septic, în condiţiile prezenţei bacteriemiei.

• ***FACTORII DE STIMULARE A COLONIILOR CELULARE (CSF)*** formează un grup de proteine cu rol în reglarea producţiei şi activităţii celulelor hematopoietice. Deşi au aceleaşi efecte biologice, aceşti factori nu constituie o familie, pentru că au structuri diferite, codificate de gene diferite şi acţionează asupra receptorilor celulari specifici.

CSF sunt produşi de variate tipuri celulare, dar nivelul seric este foarte scăzut în condiţii normale. Infecţia bacteriană sau parazitară determină creşterea nivelului seric al CSF, precum şi formarea unei "reţele funcţionale" larg distribuită la nivel tisular, care asigură răspunsul local rapid la agenţi inflamatori. Producţia de CSF are un caracter tranzitoriu dependent de acţiunea agentului infecţios, iar efectele biologice sunt limitate în timp, deoarece CSF au durată de viaţă scurtă.

Mecanismul de stimulare al sintezei de CSF presupune participarea mesagerilor intracelulari (Ca^{2+}, IP_3), precum şi activarea proteinkinazelor, urmată de creşterea ratei de transcripţie a genelor CSF.

Există deosebiri la nivel transcripţional între mecanismul de activare a sintezei de CSF indus de antigene şi cel indus de unele citokine, pentru că tipurile de CSF produse sunt diferite de la un inductor la altul. Nu este încă suficient clarificat nici mecanismul prin care acelaşi inductor are ca efect producerea mai multor tipuri CSF şi, în plus, şi a altor citokine.

Gene care codifică sinteza GM-CSF, IL-1, IL-4 şi IL-5 sunt localizate pe braţul lung al cromozomului 5 în regiunea genetică 5q21-q31. Pe acelaşi cromozom 5, în regiunea 5q33, sunt situate genele care codifică sinteza M-CSF şi a receptorului său. Gena care codifică sinteza G-CSF este situată pe cromozomul 17 (regiunea 17q21-q22).

Există posibilitatea unei transcripţii alternative a genelor CSF, care, alături de mecanismul îmbinării diferenţiate a ARNm, determină apariţia unor forme moleculare distincte structural, dar nu şi funcţional. Se descriu două forme moleculare de GM-CSF, rezultate prin transcripţia "alternativă" a genelor şi două forme moleculare de M-CSF, rezultate prin îmbinarea diferenţiată a ARNm.

Receptorii pentru CSF (CSF-R) sunt proteine membranare, care fac parte din familia receptorilor hematopoetinici (GM-CSF-R, G-CSF-R, IL-3-R) şi din familia receptorilor tirozinkinazici (M-CSF-R).

Receptorul CSF-R este distribuit strict pe celulele liniei moncito-macrofagice, G-CSF-R pe linia granulocitară neutrofilă şi mai puţin pe

Scanned with OKEN Scanner

monocite/macrofage, în timp ce GM-CSF-R şi IL-3 au o distribuţie celulară mai largă.

Mecanismele de semnalizare intracelulară presupun modificări conformaţionale reversibile ale segmentului intracelular, producţia de AMPc, activarea proteinkinazei C şi a tirozinkinazei.

Efectele biologice ale CSF se exercită şi în cazul adminstrării in vivo. Comparativ cu alte citokine, efectele adverse ale administrării in vivo sunt mult mai puţin severe şi se traduc prin dureri osoase, flebite, edeme, urticarie, febră, toate legate de administrarea în doze mari şi prelungite.

CSF stimulează proliferarea celulelor mieloide leucemice. De aceea, administrarea lor în scop terapeutic la pacienţii cu sindrom mielodisplazic este contraindicată.

Factorul de stimulare a coloniilor celulare granulocitare şi macrofagice (GM-CSF), denumit şi CSF-α sau pluripoetina-α, are efect pleiotrop prin acţiune pe celula stem multipotentă din măduva hematogenă şi orientează progenitorii mieloizi imaturi spre populaţia de celule mononuclear-fagocitară şi granulocite [67, 80, 81, 123, 148, 235, 241, 280, 281].

GM-CSF este un monomer de 22 kD şi 144 aminoacizi.

Secvenţa ADNc al GM-CSF a fost determinată în 1985, iar gena sa se află pe cromosomul 5 uman. În acest "scenariu", **sursa** GM-CSF poate fi macrofagul alveolar (care prezintă o producţie de GM-CSF de trei ori mai mare, decât celelalte macrofage.

O altă sursă posibilă pentru GM-CSF, ca şi pentru IL-3 şi IL-5, este reprezentată de LyT prezente în căile aeriene.

Citokinele adiţionale, cum ar fi, IL-4, IL-13 (ambele stimulatorii) şi IFN-γ (inhibitor), pot fi implicate în controlul sintezelor de IgE, deşi IL-1 şi TNF-α pot contribui la inflamaţia căilor aeriene, prin "up"-reglarea expresiei moleculei de adeziune pe celulele endoteliale.

Alte surse celulare ale GM-CSF sunt reprezentate de: limfocite T, fibroblaste, celule endoteliale şi macrofage activate.

Receptorul pentru GM-CSF (GM-CSF-R) are structură proteică dimerică, alcătuită din nouă subunităţi alfa şi beta. Subunitatea alfa de 85 kD este specifică şi are afinitate mică, de 1-8 nM, iar subunitatea beta, de 130 kD, este comună structurii receptorilor IL-3-R şi IL-5-R, având o afinitate mare, de 3-100 pM. Existenţa acestei subunităţi explică competiţia încrucişată de fixare pe receptori între GM-CSF, IL-3 şi IL-5. Ocuparea

Scanned with OKEN Scanner

receptorului de către un tip de citokină împiedică exercitarea efectelor biologice ale citokinelor competitoare.

Forma dimeră α/β a receptorului GM-CSF-R rezultă prin asocierea necovalentă a subunității alfa specifice cu subunitatea beta comună. Complexul alfa/beta este distribuit cu o densitate mică (100-500/celulă) pe următoarele celule țintă: celule stem hematopoetice, neutrofile, eozinofile, macrofage. Lanțul beta asigură receptorului o afinitate mai mare de fixare a ligandului și este mediatorul principal al semnalului intracelular.

Există o formă solubilă (GM-CSF-Rs) rezultată prin îmbinarea diferențiată a ARNm. Prin fixarea GM-CSF circulant, forma solubilă are rolul de a inhiba legarea acestora de receptorii membranari, dar, în același timp, funcționează ca moleculă transportoare a GM-CSF la nivelul țesutului țintă. Receptorul solubil este eliberat în matricea extracelulară ca factor implicat în creșterea și dezvoltarea granulocitelor și macrofagelor.

Mecanismul de semnalizare intracelulară mediat de subunitatea β presupune activarea tirozinkinazei.

GM-CSF are următoarele **efecte biologice**:

- pe celulele progenitor mieloide: stimulează diferențierea și proliferarea celulelor progenitor mieloide spre populația de celule mononuclear-fagocitare și neutrofile, dar și a altor progenitori din seria eritrocitară și megacariocitară și stimulează viabilitatea progenitorilor mieloizi și a celulelor mature ale acestei serii;
- pe neutrofilele umane: are efecte sinergice cu ale G-CSF, stimulează adeziunea și chemotactismul, dar concentrații mari pot determina inhibarea migrării neutrofilelor, stimulează activarea neutrofilelor în prezența celulelor bacteriene, stimulează funcția de fagocitoză și capacitatea bactericidă prin producția de radicali liberi ai oxigenului și de Il-1, în cadrul răspunsului inflamator;
- pe eozinofile: stimulează capacitatea eosinofilelor de a distruge paraziți prin producția de anion superoxid și leucotriene, crește expresia moleculelor de adeziune;
- pe macrofage: are efecte sinergice cu M-CSF și GM-CSF, stimulează proliferarea, stimulează eliberarea de activator al plasminogenului, stimulează eliberarea de: PGE, IFN, IL-1 și TNF;
- pe celulele dendritice: stimulează secrețiile celulare.

GM-CSF și G-CSF participă la realizarea inflamației acute. GM-CSF, IL-3 și IL-5 perpetuează activarea eozinofilului și supraviețuirea acestuia, fiind implicate în etiopatogenia inflamațiilor alergice, cum ar fi astmul bronșic.

Scanned with OKEN Scanner

GM-CSF (Sargramostim, Leukine®, Prokine®) prezintă următoarele **indicaţii terapeutice**:

- accelerarea vindecări pacienţilor care au primit un transplant de măduvă osoasă autologă;
- în cazurile de neutropenie, după chimioterapie sau după transplante medulare;
- mielodisplazii;
- anemie aplastică;
- neutropenie congenitală;
- neutropenie ciclică;
- infecţii cu HIV;
- leucopenia indusă de Zidovudin şi alte tipuri de leucopenii;
- leucemia cu celule păroase;
- afecţiuni cronice maligne ale măduvei osoase.

Efectele adverse care apar după administrarea de GM-CSF sunt următoarele:

- stare generală influenţată;
- febră;
- artralgii;
- sindrom de infiltrare capilară;
- revărsate pleurale şi pericardice.

GM-CSF este condiţionat în fiole care conţin 250 sau 500 micrograme. Se administrează pe cale intravenoasă, sub formă de perfuzii.

GM-CSF se administrează iniţial în doze de 250 micrograme/m^2/zi, timp de câteva zile, după o chimioterapie completă pentru a împiedica rejetul de grefă a măduvei osoase. Se continuă administrarea GM-CSF, până ce numărul absolut al neutrofilelor este de aproximativ 2000-5000/microlitru.

Pentru celelalte indicaţii terapeutice se folosesc, de asemenea, doze mari de GM-CSF.

Cei mai mulţi dintre pacienţi răspund cu o creştere promptă şi, uneori, "dramatică" a numărului de granulocite, aceasta determinând în unele cazuri o scădere a numărului de infecţii. Numai o mică proporţie dintre pacienţii trataţi cu GM-CSF răspund printr-o creştere a hematocritului sau a numărului plachetelor.

Scanned with OKEN Scanner

Factorul de stimulare a coloniilor de granulocite (G-CSF) sau CSF-β este o citokină care stimulează diferenţierea şi proliferarea celulelor progenitor mieloide spre linia granulocitară neutrofilă [80, 123, 148, 235, 241, 280, 281].

G-CSF este un monomer glicoproteic de 19 kDa şi cu o secvenţă de 172 de aminoacizi, constantă în proporţie de 75% şi asemănătoare cu IL-6. Se prezintă sub două forme moleculare rezultate prin îmbinarea diferenţiată a ARNm, care diferă prin inserţia unui tripeptid în poziţiile 35 şi 36 ale lanţului polipeptidic.

ADNc al G-CSF a fost clonat în 1986, iar gena care codifică sinteza sa se află pe cromosomul 17.

Sursele celulare ale G-CSF sunt: fibroblastele, celulele endoteliale, macrofagele. Producţia de G-CSF creşte după stimularea bacteriană sau după acţiunea unor citokine, cum ar fi: IL-1, TNF-α, IL-3, IL-4 şi GM-CSF.

Receptorul pentru G-CSF (G-CSF-R) aparţine familiei receptorilor hematopoetinici. Este reprezentat de un singur lanţ polipeptidic de 150 kD al cărui segment extracelular este organizat în trei domenii: primul domeniu are structură imunoglobulinică, al doilea este bogat în cisteină şi al treilea este reprezentat de secvenţa Trp-Ser-X-Ser. Receptorul este distribuit la nivelul celulelor ţintă: granulocite, celule stem multipotente, progenitori mieloizi, limfocite T şi fibroblaste.

Densitatea celulară a receptorului G-CSF-R este mică (50-500/celulă), dar afinitatea de legare este înaltă (2-4 nM).

Transmiterea intracelulară a semnalului biologic este realizată prin activarea tirozinkinazei şi creşterea producţiei de AMPc.

G-CSF prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează diferenţierea şi proliferarea progenitorilor neutrofili;
- activează neutrofilele mature, crescând expresia moleculelor de adeziune şi a receptorilor pentru fracţiunea C3b a complementului;
- stimulează funcţia chemotactică a granulocitelor;
- stimulează granulocitele în producţia de radicali liberi ai oxigenului şi metaboliţi ai acidului arahidonic;
- stimulează participarea neutrofilelor mature la mecanismul citotoxicităţii celulare anticorp-dependente (ADCC).

G-CSF (Filgrastim, Neupogen®) prezintă următoarele **indicaţii terapeutice**:

- terapia pacienţilor care au primit o medicaţie mielosupresivă pentru tumori nemieloide;
- neutropenii după transplante de măduvă osoasă;

Scanned with OKEN Scanner

- mielodisplazii;
- anemie aplastică;
- neutropenie congenitală;
- neutropenie ciclică;
- infecţii cu HIV;
- leucopenia indusă de Zidovudin şi alte tipuri de neutropenii;
- leucemia cu celule păroase;
- afecţiuni cronice maligne ale măduvei osoase.

Efectele adverse sunt aceleaşi ca după terapia cu GM-CSF, dar au manifestări mai puţin grave. G-CSF determină, în plus, dureri osoase care dispar când se întrerupe tratamentul.

G-CSF este condiţionat în fiole care conţin 300 sau 480 micrograme. Se administrează pe cale intravenoasă sau subcutanată.

După transplantul de măduvă osoasă, în urma unei chimioterapii supresive complete, se administrează G-CSF în doză de 5 micrograme/kg corp/zi, zilnic, până la obţinerea unui număr absolut de neutrofile de aproximativ 2000-5000/microlitru.

Pentru celelalte indicaţii terapeutice, G-CSF se administrează, de asemenea, în doze mari zilnice.

Se poate concluziona că, atât G-CSF, cât şi GM-CSF stimulează neutrofilul, în timp ce GM-CSF, în plus, stimulează funcţiile de celule efectorii ale eozinofilelor şi fagocitelor mononucleare.

Factorul de stimulare a coloniilor de macrofage (M-CSF) acţionează la nivelul măduvei hematogene asupra progenitorilor mieloizi prin stimularea diferenţierii şi proliferării acestora în monocite şi macrofage [80, 123, 148, 235, 241, 280, 281].

M-CSF este o proteină glicozilată, de 15-30 kD şi conformaţie dimerică menţinută prin punţi disulfurice intramoleculare. Se descriu două forme de M-CSF transcrise în lanţuri ARNm de 1,6 kb şi 4 kb.

Prin hidroliza enzimatică a formei transcrise în lanţ ARNm scurt, se eliberează forma circulantă a M-CSF, de 44 kD. De asemenea, M-CSF cu greutate moleculară mare prezintă o formă solubilă, circulantă, de 70 kDa.

Deşi sunt exprimate diferit pe suprafaţa diferitelor tipuri celulare, cele două tipuri de M-CSF nu prezintă deosebiri în activitatea biologică, pentru că segmentul structural activ corespunde secvenţei de aminoacizi 1-158 a lanţului polipeptidic.

Sursele celulare ale M-CSF sunt reprezentate de: fibroblaste, macrofage activate, celule stromale ale măduvei hematogene, celule endoteliale, celule placentare.

Scanned with OKEN Scanner

Controlul producţiei de M-CSF este mediat prin reglarea nivelului şi activităţii proteazelor specifice care transformă precursorul în forma matură.

Receptorul pentru M-CSF (M-CSF-R) a fost identificat iniţial ca factor de activare a genei oncogene virale (c-fms). Este distribuit pe: celulele stem hematopoietice, macrofage, celulele trofoblastului placentar. Densitatea receptorilor membranari este de 10^3-20^3/celulă, iar afinitatea de legare variază între 0,2-0,4 nM. Prin organizarea segmentului extracelular, M-CSF-R face parte din familia receptorilor cu structură imunoglobulinică, iar prin cea a segmentului intracelular şi mecanismul de semnalizare aparţine familiei receptorilor tirozinkinazici.

M-CSF produce următoarele **efecte biologice**:

- stimulează diferenţierea şi proliferarea progenitorilor mieloizi spre linia celulară mononuclear-fagocitară;
- stimulează proliferarea macrofagelor mature, prin efect sinergic cu GM-CSF şi IL-3;
- creşte producţia de IL-1 şi TNF de către macrofage;
- creşte capacitatea ciototoxică a macrofagelor.

Acest factor nu este încă disponibil pentru utilizare în clinica umană.

• ***FACTORUL DE TRANSFORMARE A CREŞTERII (TGF)***

Se descriu două citokine cu rol în transformarea creşterii celulare, notate cu alfa şi beta (TGF-α şi TGF-β) [235, 280, 281].

TGF-α este o citokină identificată în mediul celulelor transformate prin proliferare oncogenă, cu rol şi în diferenţierea şi creşterea celulelor normale, îndeosebi a celulelor mezenchimale şi epiteliale. Producţia crescută de TGF-αeste implicată în dezvoltarea anumitor tipuri de neoplasme.

TGF-β reprezintă o familie de polipeptide modulatoare ale creşterii celulare a căror sinteză este codificată de gene diferite şi care prezintă receptori specifici pe toate tipurile celulare. S-au descris până în prezent mai multe citokine strâns înrudite, care fac parte din familia factorului de transformare a creşterii şi anume: TGF-β1-TGF-β5, cu omologie structurală de 80%, codificate de gene separate, cu afinitate egală de legare la receptorul pentru TGF.

TGF-β este o proteină dimer, de 25-28 kDa, alcătuită din două subunităţi identice, de câte 12 kDa, sau înrudite structural cu alte polipeptide, în funcţie de sursa celulară. Este produsă sub formă de precursor cu 391 de aminoacizi, din care se formează prin clivaj enzimatic un dimer ce reprezintă forma moleculară matură.

Scanned with OKEN Scanner

S-au descris cinci tipuri de **receptori**: TGF-β-R I – TGF-β-R V, cu distribuție celulară heterogenă. TGF-β-R I, II și III au distribuție celulară largă, în timp ce TGF-beta-R IV este distribuit pe celulele endoteliale, iar TGF-β-R V pe celulele endoteliale, epiteliale, fibroblaste și condrocite. Densitatea acestor receptori variază între 100 și 1000/celulă. Structura este diferită.

TGF-β-R III prezintă o formă solubilă (TGF-β-R IIIs) rezultată prin proteoliza enzimatică a segmentului extracelular.

Sursele celulare ale TGF-βsunt: limfocite T, limfocite B, macrofage, plachete, monocite, celule placentare, osteoblaste, osteoclaste, celule renale.

Celulele țintă ale TGF-β sunt reprezentate de: limfocitele T, limfocitele B, celulele stem hematopoietice, macrofagele, celulele NK, osteoclastele, fibroblastele, celulele epiteliale, hepatocitele foetale și celulele endoteliale.

TGF-β prezintă următoarele **efecte biologice**:

- inhibă proliferarea și activarea LyT și producția lor de limfokine;
- inhibă proliferarea și activarea LyB și producția lor de Ig;
- inhibă replicarea precoce a celulelor stem hematopoietice;
- stimulează "atragerea" macrofagelor la locul agresiunii;
- inhibă proliferarea și activitatea celulelor NK și inducerea activării celulelor LAK prin IL-2;
- activează osteoclastele;
- stimulează și mobilizează fibroblastele, accelerând vindecarea plăgilor, prin creșterea secreției de colagen, fibronectină și stimularea colagenazei;
- suprimă proliferarea celulelor epiteliale, a hepatocitelor fetale și a celulelor endoteliale;
- este un reglator negativ al imunității și hematopoiezei;
- scade exprimarea celulară a proteinelor MHC de clasă a II-a și a receptorilor pentru IL-1;
- în doze de 10^{-10}-10^{-12}, blochează efectele proliferative ale IL-2 pe limfocitele T și limfocitele B și ale IL-1 pe timocite;
- inhibă in vitro generarea limfocitelor T citotoxice.

TGF-β exacerbează inflamația în articulațiile inflamate, prin efectele chimioatractive pentru neutrofile și monocite și prin stimularea expresiei pe monocite a moleculelor de adeziune. La om, TGF-β întrerupe secreția de IgA de către limfocitele B.

Scanned with OKEN Scanner

TGF-β poate fi utilizat în următoarele condiţii clinice:

- accelerator al vindecării rănilor în oftalmologie, dermatologie, chirurgie,;
- prevenirea reacţiilor cu fibroze întinse postinflamatorii;
- ca medicament antialergic, prin inhibarea sintezei de IgE stimulată de IL-4.

Alţi factori de creştere, cum ar fi factorul de creştere epidermic, factorul de creştere derivat din plachete şi factorul de creştere al fibroblastelor, au fost studiaţi pentru potenţialul utilizării lor clinice în vindecarea plăgilor şi revascularizaţie.

Date experimentale sugerează că glomerulonefrozele şi glomerulosclerozele pot fi atribuite parţial efectelor patogene ale TGF-β, în special acumulării proteinelor în matricea extracelulară.

TGF-β este, de asemenea, suspectat ca fiind implicat în patogenia slerozei sistemice. Unele date experimentale sugerează că un proteoglican, Decorin, se leagă de TGF-β şi poate fi utilizat în clinică în terapia bolilor asociate cu o activitate excesivă a TGF-beta.

• ***FACTORUL DE RECUNOAŞTERE DERIVAT DIN TUMORI (TDRF)*** [114] prezintă acţiune sinergică, ci IFNγ şi/sau IL-2, în activarea macrofagelor de şoarece pentru producţia de TNFα, dar şi pentru producţia de NO.

TDRF produce reglarea ascendentă ("up-reglarea") a sintezei receptorilor pentru TNFα (TNFαR) şi a receptorilor pentru IFNγ (IFNγR), precum şi o creştere a legării TNFα şi a IFNγ la receptorii lor [Jiang şi colab., 1995; Jiang şi colab., 1996, citaţi bibl. 114], acesta fiind unul din mecanismele posibile prin care TDRF stimulează activarea macrofagelor, crescând citotoxicitatea lor mediată de NO, faţă de tumori.

Activarea NOS de către TDRF este dependentă de doză şi se realizează numai prin intermediul IFNγ şi/sau a IL-2. Astfel, TDRF are o acţiune sinergică cu IFNγ şi/sau IL-2, în activarea macrofagelor pentru a induse stimularea NOS, dar nu-şi exercită aceste efecte decât în prezenţa IFNγ/IL-2.

TDRF, în concentraţii scăzute, are acţiune sinergică cu IFNγ în activarea macrofagelor pentru a produce atât TNFα, cât şi NO. IFNγ este indispensabil pentru a promova sinteza unui cofactor-tetrahidrobiopterin - necesar pentru mobilizarea unei funcţii catalitice a NOS şi se pare că, din acest punct de vedere, este sinergic cu LPS sau cu Lipidul A.

Scanned with OKEN Scanner

Activitatea ***NOSi*** în macrofage poate fi indusă de: IFNγ, TNFα, IL-1, LPS sau MDP. Aceşti factori sunt grupaţi în două categorii:

- stimuli de tip A: IFNγ;
- stimuli de tip B: LPS, IL-1, TNFα, MDP.

• ***FACTORII DE CREŞTERE AI FIBROBLASTELOR (FGF)*** [107] sunt un grup de peptide stimulatoare ale proliferării celulelor mezenchimale.

Sursele celulare ale FGF sunt reprezentate de: LyT umane [Zhao X.M. şi colab., 1985, citaţi bibl. 107], macrofagele peritoneale din ţesuturile inflamate sau tumorale, microgliile, celulele renale.

Au fost cercetate sistematic 7 fragmente ale factorului acid de creştere al fibroblastelor (aFGF): aFGF (1-15), aFGF (1-20), aFGF (1-29), Ala-aFGF (1-29), aFGF (9-29), aFGF (114-140), aFGF (1-29), precum şi factorul bazic de creştere al fibroblastelor (bFGF).

Factorul aFGF este produs în proporţii semnificative de LyT umane, monocite, macrofage, microglii, iar bFGF este produs de macrofagele din ţesuturile inflamate (sinoviala din poliartrita reumatoidă, ţesuturile pacienţilor cu sarcoidoză), macrofagele peritoneale, LyT CD_{4+} şi CD_{8+}.

FGF au fost iniţial identificaţi pe baza efectelor lor de mitogeni pentru fibroblaste, demonstrându-se ulterior şi efectele de inducere a proliferării şi diferenţierii şi pentru alte tipuri celulare, precum şi acţiunea stimulatoare pe alte funcţii ale SI [Baird A. şi Walicke P.A., 1989, citaţi bibl. 107].

Aceşti factori au un **rol** important în angiogeneză, „repararea" leziunilor tisulare, embriogeneză şi dezvoltarea SN, prin efectele lor mitogenice sau neurotrofice pe celulele mezenchimale şi neuroectodermice.

FGF modulează funcţiile macrofagelor şi stimulează LyT în producţia de IL-2. Răspunsul celular tip hipersensibilitate întârziată mediat de LyT, la şoareci cu senescenţă accelerată, este redobândit sub acţiunea aFGF [Oomura Y. şi colab., 1996, citaţi bibl. 107]. Mai mult, aFGF previne deteriorarea răspunsului de hipersensibilitate întârziată la şoareci cu senescenţă accelerată [Oomura Y. şi colab., citaţi bibl. 107].

Factorul aFGF este un polipeptid cu 140 aminoacizi, care aparţine familiei de factori de creştere polipeptidici ce leagă Heparina [Esch F. şi colab., 1985, citaţi bibl. 107].

Date experimentale demonstrează că stimularea capacităţii de fagocitoză a macrofagelor peritoneale de către aFGF este dependentă de doză şi este complet inhibată de Mannan (4 mg/ml soluţie, *in vitro*), precum

Scanned with OKEN Scanner

şi de Heparină (100 micrograme /ml soluţie, *in vitro*). Este sugerată ipoteza că fragmentele 15-29 ale aFGF stimulează capacitatea de fagocitoză a macrofagelor, independent de concentraţia Ca^{2+} extracelular, această stimulare fiind mediată de receptorii pentru manoză. Macrofagele joacă un rol cheie în angiogeneza inflamatorie şi tumorală [Sunderkotter C. şi colab., 1994, citaţi bibl. 107]. Prin eliberarea de protease, factori de creştere, precum şi a altor monokine, macrofagele activate influenţează fiecare fază a procesului angiogenic, cum ar fi, remanierile locale ale matricei extracelulare, inducerea migrării sau proliferării celulelor endoteliale şi inhibarea dezvoltării vaselor, cu formarea de capilare diferenţiate. Astfel, macrofagele au o relaţie complexă cu celulele neoplazice [Mantovani A. şi colab. , 1992, citaţi bibl. 107].

Pe de o parte, macrofagele promovează neovascularizaţia, prin eliberarea factorilor angiogenici, având drept consecinţă creşterea în dimensiuni a tumorii. Pe de altă parte, se impune funcţia macrofagelor ca celule imunocompetente care inhibă creşterea tumorilor şi produc liza celulelor neoplazice. Prezenţa aFGF în microglie a fost observată după delimitarea leziunilor inflamatorii [Tourbah A. şi colab., 1992, citaţi bibl. 107]. După infarctul cerebral, imunoreactivitatea macrofagelor la aFGF este crescută [Hara Y., 1994 şi colab., citaţi bibl. 107]. Hipoxia stimulează eliberarea de aFGF şi de bFGF de către macrofage [Kuwubara K. Şi colab., 1995, citaţi bibl. 107]. La nivelul monocitelor umane au fost descrişi receptorii tip FGFR-2, care leagă atât aFGF, cât şi bFGF [Miki T. şi colab. 1992, citaţi bibl. 107]. S-a demonstrat experimental că aFGF şi bFGF induc mobilizarea Ca^{2+} citosolic în macrofagele peritoneale de şoarece [Hckshaw K. V. Şi Shi Y., 1994, citaţi bibl. 107]. Pe această cale, aFGF stimulează capacitatea de fagocitoză a macrofagelor peritoneale (la şoarecii BALB/c A Jcl).

Receptorii FGFR-1 mediază răspunsurile celulare, atât la aFGF, cât şi la bFGF şi sunt exprimaţi pe LyT umane [Zhaw X.M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 107]. Aceşti receptori mediază producţia de IL-2 de către LyT [Zhaw X.M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 107].

Date experimentale, pe şoareci BALB/c A Jcl, demonstrează că fragmentul aFGF (1-29) este cel mai puternic stimulator al capacităţii de fagocitoză a macrofagelor peritoneale, fragmentul aFGF (1-15) nu influenţează semnificativ acest parametru, iar fragmentul aFGF (114-140) îl stimulează la un nivel foarte scăzut.

Fragmentul aFGF (1-15), inoculat experimental, în ventriculul al III-lea cerebral, inhibă foamea şi setea la şobolani. Fragmentele aFGF (1-29) şi aFGF (114-140) nu produc acest efect [Sasaki K. şi colab., 1994,

Scanned with OKEN Scanner

citaţi bibl. 107]. Aceste date conduc la ipoteza că fragmentul aFGF (1-15) stimulează pe termen scurt şi potenţează stimularea pe termen lung a funcţiilor hipocampului la şobolanii de experienţă [Sasaki K. şi colab., 1995, citaţi bibl. 107]. Se poate afirma, deci, că situsul activ al aFGF pentru medierea unor funcţii fiziologice specifice este dependent de tipul celular din diferite ţesuturi.

Date experimentale demonstrează că macrofagele exprimă la suprafaţa celulei o varietate de lectine, care reprezintă suportul funcţional pentru diferite efecte biologice [Stahl P.D. şi colab., 1992, citaţi bibl. 107]. Unele lectine de pe suprafaţa macrofagelor sunt cunoscute sub denumiri ca: receptori pentru manoză, receptori AGE şi receptori tip „β-glucan".

Factorul aFGF (1-29) induce stimularea fagocitozei prin intermediul receptorilor pentru manoză, nu şi prin alte tipuri de receptori care mediază fagocitoza.

Factorii aFGF şi bFGF, în prezenţa Heparinei, produc efecte mitogenice echivalente la nivelul celulelor endoteliale. Factorul aFGF este mai puţin activ ca mitogen decât bFGF în absenţa Heparinei [Gimenez – Gallego G. şi colab., 1986, citaţi bibl. 107]. Heparina stimulează proliferarea astrocitelor şi creşte durata de supravieţuire a neuronilor [Shao N. şi colab., 1994, citaţi bibl. 107]. Datele experimentale au demonstrat că Heparina prin ea însăşi nu influenţează fagocitoza, dar anulează creşterea capacităţii de fagocitoză produsă de aFGF (1-29). O posibilă explicaţie ar fi aceea că Heparina se leagă la o anumită secvenţă de aminoacizi între poziţiile 1-29 ale factorului aFGF şi că Heparina conjugată cu aFGF (1-29) prezintă o eficienţă sau o afinitate mai mică pentru activitatea fagocitară, decât factorul aFGF singur. Date experimentale sugerează că aminoacidul 9N-terminal al bFGF poate fi important în acţiunea de modificare produsă de Heparină.

FGF sunt cunoscuţi ca factori angiogenici [Thomas K.A. şi Gimenez – Gallego G., 1986; Baird A. şi Walicke P.A., 1989; Walicke P.A., 1989, citaţi bibl. 107]. Hipoxia stimulează sinteza şi eliberarea aFGF şi a factorului bFGF din monocitele sângelui periferic uman [Kuwabara K. şi colab., 1995, citaţi bibl. 107]. Aceste date sugerează că macrofagele pot promova vascularizaţia tumorii prin producţia de FGF, ca factori de creştere promotori ai angiogenezei. Prin contrast, macrofagul este o APC care induce reacţii imunologice [Unanue E.R. şi Allen P.M., 1987, citaţi bibl. 107]. Macrofagele produc şi eliberează factori citotoxici, cum ar fi, TNF [Sunderkotter C. şi colab., 1994, citaţi bibl. 107]. Factorul aFGF poate activa fagocitoza la macrofage. Aceste date sugerează că macrofagele pot inhiba creşterea tumorii şi pot distruge celulele neoplazice prin intermediul

Scanned with OKEN Scanner

FGF şi al altor citokine eliberate. Toate acestea conduc la ipoteza că macrofagele pot influenţa creşterea tumorii şi progresia ei în direcţii opuse [Mantovani A. şi colab., 1992, citaţi bibl. 107]. Alternativ, factorul aFGF şi factorul bFGF pot fi nu numai factori promotori ai tumorii, ca factori angiogenici, dar, de asemenea, ***factori imunoreglatori***. Aceasta sugerează că FGF poate funcţiona ca un important reglator în dezvoltarea tumorii.

• ***EOTAXIN*** este o citokină iniţial deschisă la modelele de astm bronşic indus la rozătoare [131]. A fost clonat şi omologul său uman, care este o proteină cu 74 aminoacizi.

Eotaxin conţine 2 sau 4 cisteine adiacente, care o încadrează în subsetul β (C-C) al chemokinelor. Ca nivel al aminoacizilor, este cea mai apropiată de proteinele MCP. Eotaxin este un chemoatractant specific pentru eozinofile, în special, al eozinofilelor pulmonare şi cutanate (intradermice). Datele experimentale existente demonstrează că IL-5 şi Eotaxin acţionează în strânsă legătură pentru a promova recrutarea eozinofilelor în ţesut. Ea este produsă de celulele epiteliale şi endoteliale stimulate de citokine, ca şi de eozinofilele stimulate de IL-3.

Eotaxin este implicată în bolile inflmatorii ale intestinului, condiţii în care nivelurile sale de ARNm sunt marcat crescute, în special în colitele ulcerative.

Eotaxin şi IL-5 reglează la om eozinofilia la nivelul situsurilor inflamaţiei alergice. La nivelul acestor situsuri, numai Eotaxin are un efect (redus , însă) asupra recrutării eozinofilului în plămân, căi respiratorii şi sânge. Animalele deficiente atât în IL-5, cât şi în Eotaxin, prezintă cele mai profunde deficienţe în ceea ce priveşte eozinofilia la nivelul tuturor situsurilor şi absenţa completă a hipersensibilităţii căilor aeriene la modificarea alergenică.

CITOKINE IMPLICATE ÎN INFLAMAŢIE [80, 178, 202, 203, 206, 275, 280]

Inflamaţia, un tip de răspuns la agresiunea asupra ţesuturilor, este caracterizată în ***faza acută*** prin flux sanguin crescut şi permeabilitate vasculară crescută, alături de acumularea lichidului, leucocitelor şi a mediatorilor inflamatori de tipul citokinelor în focarul inflamator. ***Faza subacută/cronică*** (ulterior denumită numai "cronică") se caracterizează prin dezvoltarea răspunsurilor imune specifice, umorale şi celulare, faţă de agentul patogen "prezent" la nivelul ţesutului lezat.

Atât în timpul proceselor inflamatorii acute, cât şi în timpul celor cronice, sunt implicaţi variaţi *factori solubili* pentru recrutarea leucocitului,

Scanned with OKEN Scanner

prin expresia crescută a moleculelor de adeziune celulară şi chemoatracţie. Mulţi dintre aceşti mediatori solubili reglează activarea celulelor "rezidente" (cum ar fi, fibroblastele, celulele endoteliale, macrofagele tisulare şi mastocitele), precum şi pe cea a celulelor inflamatorii recent recrutate (cum ar fi, monocitele, limfocitele, neutrofilele şi eozinofilele), unele dintre acestea producând mediatori în cadrul răspunsurilor sistemice la procesele inflamatorii (cum ar fi, febra, hipotensiunea arterială, sinteza proteinelor de fază acută, leucocitoza, caşexia). Factorii solubili care mediază aceste răspunsuri pot fi încadraţi în patru categorii:

a) metaboliţii inflamatori lipidici, cum ar fi, PAF şi numeroşii derivaţi ai acidului arahidonic (PG, LT, lipoxine), care sunt generaţi din fosfolipidele membranei celulare;

b) trei "cascade" ale proteazelor solubile/ substraturi (coagulare, complement, kinine), care generează numeroase peptide proinflamatorii;

c) oxidul nitric, un puternic vasodilatator endogen, al cărui rol în procesele inflamatorii a început relativ recent să fie explorat;

d) un grup de polipeptide derivate din celule, cunoscute sub numele de citokine, care extind larg "orchestra" răspunsului inflamator, deoarece ele sunt determinanţii majori ai creşterii infiltratului celular, ai stării de activare celulară şi ai răspunsurilor sistemice la inflamaţie.

Cele mai multe citokine sunt multifuncţionale (Fig. 8 şi 9). Ele sunt molecule pleiotrope, care îşi exercită efectele lor locale sau sistemice într-un mod autocrin sau paracrin. Citokinele sunt implicate în fenomene extinse, care presupun interacţiuni sinergice sau antagonice şi realizează efecte reglatorii, atât negative, cât şi pozitive, pe diferite celule ţintă.

Citokinele care deţin roluri cheie în ***medierea reacţiilor acute inflamatorii*** sunt: IL-1, TNF-α, IL-6, IL-11, IL-8 şi alte chemokine, G-CSF şi GM-CSF. Dintre acestea, IL-1 (α şi β) şi TNF sunt molecule inflamatorii extrem de puternice: ele sunt citokinele primare care mediază inflamaţia acută (ce poate fi indusă experimental la animale, prin injectarea lipopolizaharidului bacterian) şi reprezintă doi dintre mediatorii primari ai şocului septic.

Scanned with OKEN Scanner

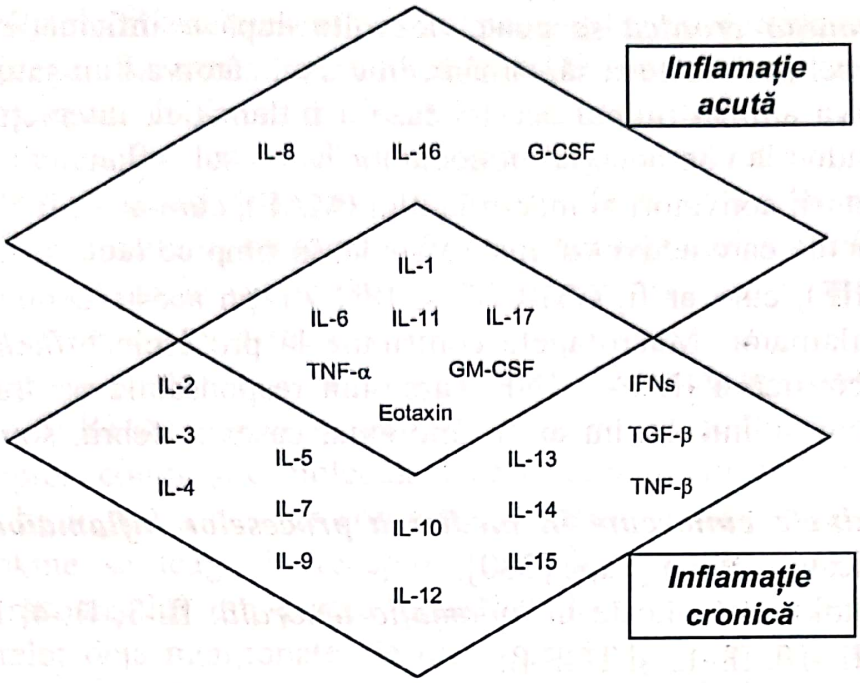


Figura 8. Citokinele implicate în inflamație
(Schemă modificată, după bibl. 280)

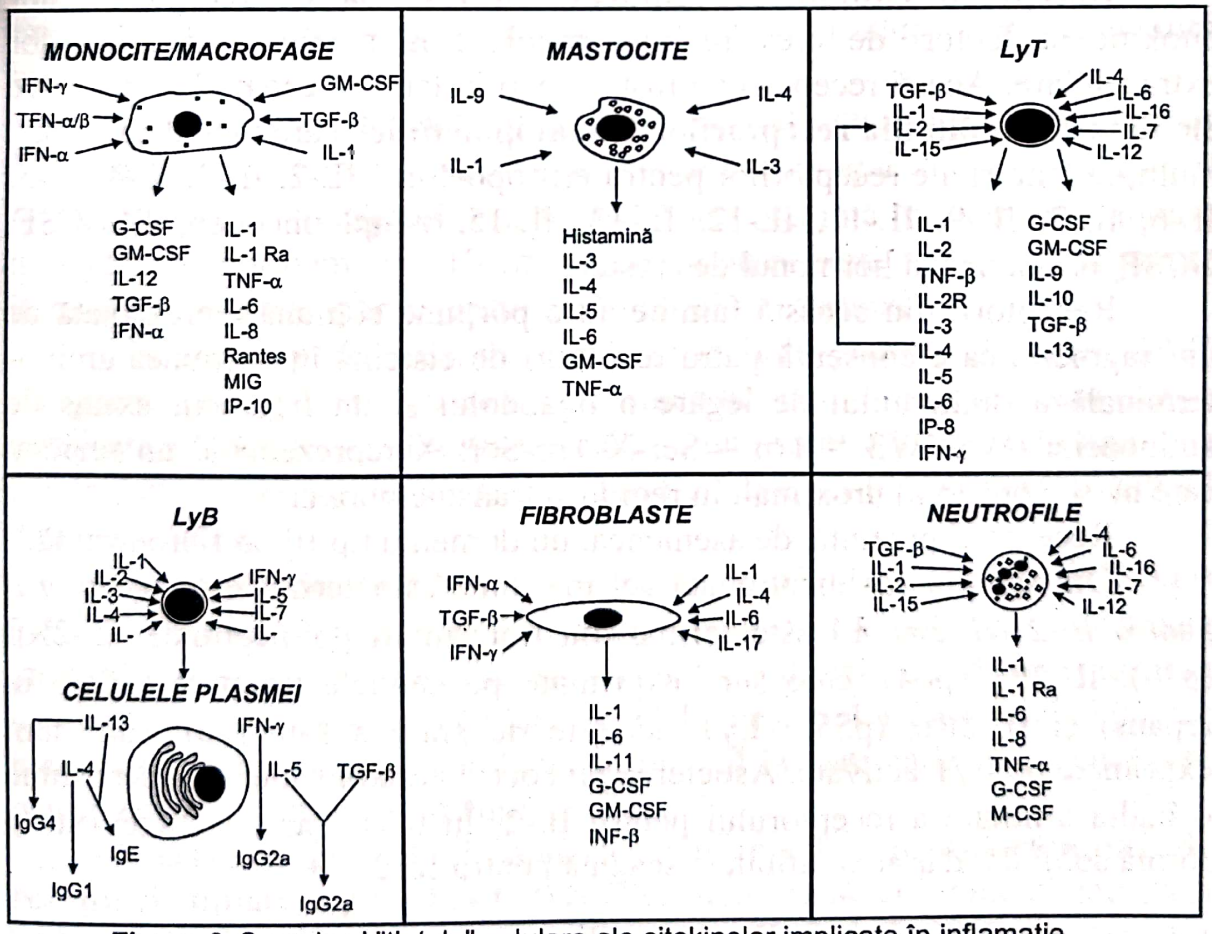


Figura 9. Sursele şi "ţintele" celulare ale citokinelor implicate în inflamație
(Schemă modificată, după bibl. 280)

Scanned with OKEN Scanner

Inflamația cronică se poate dezvolta după o inflamație acută, pe parcursul a cel puțin câteva săptămâni, în cursul câtorva luni sau, uneori, în cursul câtorva ani. În timpul acestei faze a inflamației, interacțiunile între citokine conduc la chemotaxia monocitelor la situsul inflamației, unde sunt eliberați factorii activatori ai macrofagului (MAF), cum ar fi, IFN-γ, MCP-1 şi alte molecule care activează macrofagele, în timp ce factorii inhibitori ai migrării (MIF), cum ar fi, GM-CSF şi IFN-γ reţin aceste celule la nivelul situsului inflamator. Macrofagele contribuie la procesele inflamatorii prin elaborarea cronică a IL-1 şi TNF, care sunt responsabile pentru medierea unor simptome clinice, cum ar fi: anorexia, caşexia, febra, somnolența şi leucocitoza.

Citokinele cunoscute în medierea proceselor inflamatorii cronice pot fi clasificate în două grupe [280]:

a) citokine implicate în *inflamația umorală*: IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-13 şi TGF-β;

b) citokine implicate în *inflamația celulară*: IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, IFN, IGIF, TGF-β şi TNF-α şi β.

Receptorii citokinelor implicate în inflamație. Receptorii unor citokine şi factori de creştere sunt omologi la nivelul domeniilor lor extracelulare. Aceşti receptori au fost grupați în familii, cea mai mare dintre ele fiind **superfamilia receptorilor hematopoietinici,** care include:unul sau multiple lanțuri ale receptorilor pentru eritropoietina, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, IL-13, IL-15, v-mpl oncogen, GM-CSF, GCSF, prolactină şi hormonul de creştere.

Receptorii din această familie au o porțiune comună reprezentată de un fragment, care conservă patru reziduuri de cisteină în porțiunea amino-terminală a domeniului de legare a ligandului şi un fragment extins de aminoacizi (WSXWS = Trp – Ser-X-Trp-Ser; X reprezentând un reziduu care nu se conservă) proximal, în regiunea transmembranară.

Receptorii prezintă, de asemenea, un domeniu tip III cu fibronectină.

Din familia sus menționată cel mai bine caracterizat este *receptorul pentru IL-2 (IL-2R)*. El este format din trei lanțuri polipeptidice: IL-2Rβ (p70), IL-2Rγ (p64), care sunt exprimate pe celulele neactive (aflate în repaus) şi IL-2Rα (p55, LyT activate de antigen sau Tac), care sunt exprimate pe LyT activate. Asocierea precoce a acestor subunități determină o înaltă afinitate a receptorului pentru IL-2. În plus, Tac (IL-2Rα) este o formă solubilă, dar are o afinitate scăzută pentru IL-2.

Scanned with OKEN Scanner

IL-2R solubil este crescut în serul pacienţilor cu afecţiuni inflamatorii cronice, cum ar fi, artrita reumatoidă şi LES, unde nivelurile serice ale IL-2R sunt corelate cu forma clinică de manifestare a bolii.

Un alt membru al familiei receptorilor eritropoietinici, *IL-6R* este format dintr-o moleculă de legare a ligandului de 80 kDa şi o subunitate de transmitere a semnalului biologic care nu leagă ligandul, cu o GM de 130 kDa (gp 130). Ambele subunităţi conţin fragmente care le încadrează în superfamilia receptorilor hematopoietinici.

Receptorii pentru IL-3 (IL-3R), IL-5 (IL-5R) şi receptorii pentru GM-CSF (GM-CSFR) sunt descrişi, de asemenea, ca un complex bimolecular. Aceşti receptori conţin şi o moleculă accesorie, *polipeptidul βc (KH 97)*. O consecinţă biologică a acestor complexe-receptor constă în faptul că, deşi aceste citokine se leagă la receptori specifici, prezintă căi comune în inducerea răspunsului din partea celulelor ţintă, ca rezultat a existenţei componentelor deja menţionate ale receptorilor. De exemplu, IL-6, IL-11, LIF şi oncostatina M recunosc diferiţi receptori celulari (prin intermediul subunităţilor de legare unice), dar prezintă subunităţi de traducere a semnalului biologic şi efecte biologice similare. Aceste citokine îşi pot exercita, deci, efectele lor pe căi comune de traducere a semnalului biologice post-receptor.

Un grup de receptori mai puţin înrudiţi cu familia receptorilor eritropoietinici este reprezentat de *receptorii pentru tipul I (α şi β) şi tipul II (γ) de interferon.* Receptorii din această clasă prezintă un domeniu omolog de legare, de aproximativ 210 aminoacizi şi patru părţi cu cisteină împărţite în mod egal între grupările terminale "amino" şi "carboxi".

Un alt grup de *receptori înrudiţi* include *receptorii pentru TNF, receptorul pentru NGF,* o proteină transmembranară, *Fas (Apo-1 sau* CD_{95}*),* implicată în apoptoza LyT activate şi CD_{40}, un receptor localizat la suprafaţa celulei, important pentru medierea efectelor LyB mature şi pentru izotipul de LyB inactive.

Receptorii pentru TNF sunt proteine de 55 kDa (TR 55) şi 75 kDa (TR 75), care leagă în mod egal TNFα şi TNFβ. Domeniile lor extracelulare prezintă o identitate de aproximativ 28 %. Cele două tipuri de receptori pot media diferite răspunsuri celulare la TNF, deşi pot fi semnale biologice încrucişate între receptori, probabil la nivelul la care căile de semnalizare pentru cei doi receptori sunt cuplate.

Receptorii pentru chemokine sunt membri ai **superfamiliei de receptori cuplaţi la proteina G (GPCR).** Această superfamilie de receptori include: IL-8R-A, un receptor specific pentru IL-8 şi IL-8R-B, un receptor

Scanned with OKEN Scanner

recunoscut de IL-8 şi de alte chemokine ale *subsetului CXC.* Recent, au fost identificaţi *receptorii subsetului CC de chemokine*. Aceştia sunt reprezentaţi de: CC-CKR-1, CC-CKR-2, CC-CKR-3 , CC-CKR-4 şi CC-CKR-5. Un receptor descris recent, DARC, leagă atât chemokinele CXC, cât şi chemokinele CC. În plus, s-a identificat un nou receptor *orfan* pentru chemokine, pentru care nu au fost identificaţi liganzii. Au fost raportate cinci grupe (CC-CKR-5) drept coreceptori pentru unele tulpini de HIV-1. O deleţie 32-bp la nivelul CKR-5 întârzie progresia bolii la indivizii infectaţi cu HIV şi poate fi "responsabilă" de status-ul *Ac-negativ* al persoanelor expuse la HIV-1.

În concluzie, citokinele sunt "modulatorii-cheie" ai inflamaţiei. Ei participă la inflamaţia acută şi cronică într-o "reţea complexă de interacţiuni". Se impune cercetarea în continuare a citokinelor ca posibili agenţi de influenţare a răspunsului inflamator, pentru tratamentul bolilor autoimune, al infecţiilor şi al neoplaziilor.

Astmul bronşic este considerat *o boală inflamatorie,* ipoteză susţinută de eficienţa administrării antiinflamatoarelor, cum ar fi, GCS administraţi pe cale inhalatorie sau sistemică [5, 65, 72, 74, 84, 103, 104, 131, 144, 206, 239, 260, 261, 267].

Se consideră că patru grupe de citokine deţin un rol major în inflamaţia alergică şi în chemoatragerea eozinofilelor:

a) IL-4;
b) IL-5 şi Eotaxin;
c) IL-13;
d) IL-12 şi IL-18

LyT stimulate sintetizează şi secretă variate proteine, care sunt mediatori puternici ai inflamaţiei şi produc "down"-reglarea (reglarea descendentă a) acestor răspunsuri. Aceste proteine (limfokine) sunt importante în apărarea gazdei şi în răspunsul inflamator. La acestea se adaugă proteine similare eliberate de alte celule, cum sunt macrofagele, denumite monokine.

LyTh-1 produc, la cele mai multe specii, IL-2 şi IFN-γ, în timp ce LyTh-2 sunt surse majore pentru producţia de IL-4, IL-5 şi IL-13.

De la caracterizarea simplistă ca boală alergică mediată de IgE şi eozinofile, astmul bronşic este în prezent caracterizat ca o boală complexă mediată de LyTh-2.

IL-4 este pivotul în dezvoltarea LyTh-2 şi, împreună cu IL-13, pot conduce la izotipul *comutator* şi producţia de IgE.Ambele citokine pot

Scanned with OKEN Scanner

produce "up"-reglarea (reglarea ascendentă a) expresiei moleculei de adeziune şi producţia de mucus în căile respiratorii.

IL-5 este esenţială pentru eozinofilopoieză şi supravieţuirea eozinofilului. O consecinţă practică ar fi aceea că aceste molecule sau receptorii lor ar reprezenta agenţi terapeutici potenţiali. Astfel, un model experimental de boală alergică a fost realizat prin producerea unui dezechilibru între LyTh-1 şi LyTh-2, cu "balanţa" înclinată către LyTh-2.

Jan Agosti, director medical al corporaţiei "Immunex" (Seattle, Wash), a descris pentru prima oară posibilitatea inhibării IL-4 în astmul bronşic, prin utilizarea ***receptorului solubil pentru IL-4 (IL-4Rs)*** [martie, 2000, citat bibl. 74].

Se porneşte de la consecinţele stimulării IL-4, reprezentate de realizarea izotipului comutator pentru formarea Ac IgE, expresia crescută a receptorilor pentru IgE, creşterea expresiei moleculelor de adeziune celulară vasculară (VCAM-1) pe celulele endoteliale, o importantă interacţiune cu molecula sa ligant (VLA-4) pe eozinofile şi recrutarea eozinofilului în plămân, precum şi o producţie crescută de mucus. Rolul IL-4 în astmul alergic la om a fost evidenţiat şi prin nivelurile crescute de IL-4 în lichidul de lavaj bronho-alveolar (BAL) al pacienţilor, ca şi de nivelurile serice crescute de IL-4 şi eliberarea IL-4 din celulele mononucleare din sângele periferic, stimulate alergenic.

Utilizarea receptorilor solubili, cum ar fi, IL-4Rs, prezintă unele avantaje faţă de alte modalităţi de inhibare a activităţii IL-4: IL-4Rs este, în general, neimunogenic, prezintă o înaltă afinitate de legare şi o înaltă specificitate şi se găseşte în condiţii normale, la niveluri scăzute.

Anterior utilizării IL-4Rs, s-a cercetat posibilitatea inhibării TNF cu un receptor solubil cu rol antagonist (*TNF-Rs)*. TNF-Rs şi-a demonstrat eficienţa terapeutică în artritele reumatoide.

Pe modele experimentale pe animale sensibilizate alergenic, IL-4Rs reduce nivelurile Ac specifici IgE şi hiperreactivitatea căilor respiratorii, inhibă expresia VCAM-1, influxul eozinofilului şi producţia excesivă de mucus [97, 209].

Experimentul clinic cu **IL-4Rs uman recombinant** a condus la rezultate încurajatoare. IL-4Rs este o porţiune extracelulară solubilă a lanţului α al IL-4R, clonată şi produsă în sistemul expresiei sale la mamifere. Această porţiune are mai puţine domenii transmembranare şi citoplasmatice şi, astfel, serveşte la mascarea legării IL-4, prevenind legarea IL-4 la receptorii celulari şi blocând activarea sa, deci, inhibând funcţiile IL-4.

Scanned with OKEN Scanner

În cercetările clinice, IL-4Rs a fost administrat prin pulverizare la nivelul mucoasei căilor aeriene, timpul de înjumătățire la doza pulverizată fiind de aproximativ de 5 zile, necesitând, deci, o administrare unică pe săptămână.. Într-o primă fază a experimentului clinic, s-a constatat că administrarea de 0,5-1,5 mg/doză, prin pulverizare, pentru formele moderate şi severe de astm bronşic, dependente de GCS, determină o ameliorare a volumului expirator forţat, posibilitatea întreruperii administrării GCS, o stabilizare a scorului simptomelor astmului şi o cerinţă mai scăzută de agonişti β2-adrenergici.

Într-o a doua fază a experimentului clinic, s-au administrat prin pulverizare, timp de 12 săptămâni, o singură doză /săptămână, 0,75 mg-1,5 mg/doză, respectiv, 3mg IL-4Rs/doză, la pacienţii cu astm bronşic moderat, respectiv, sever, dependenţi de GCS. Rezultatele au fost comparabile cu cele din prima fază a experimentului şi au confirmat eficienţa administrării într-o singură doză pe săptămână a IL-4Rs în tratamentul astmului bronşic alergic.

Rolul IL-5 şi a relaţiilor sale cu chemoatractantul major al eozinofilului, Eotaxin, au fost cercetate de Paul S. Foster [Canberra, Australia, martie 2000, citat bibl. 74]. IL-5 este un alt mediator-cheie în etiologia astmului bronşic. Această citokină reglează creşterea, diferenţierea şi activarea eozinofilelor, constituind un semnal esenţial pentru inducerea eozinofiliei sanguine în timpul inflamaţiei alergice. Eotaxin, un membru al familiei CC de chemokine, este un foarte puternic inductor al recrutării eozinofilelor pulmonare şi cutanate (intradermice). Studiile experimentale pe animale de laborator au indicat că IL-5 şi Eotaxin acţionează în strânsă legătură pentru a promova recrutarea eozinofilelor în ţesuturi.

Rolul IL-5 în recrutarea eozinofilului a fost stabilit utilizând şoareci deficitari în IL-5. Pe un model de şoarece cu astm bronşic alergic, IL-5 a fost esenţială pentru dezvoltarea hiperreactivităţii căilor respiratorii şi a eozinofiliei căilor respiratorii şi tisulare. Transferul LyTh-2 CD_{4+}, la şoareci deficienţi în IL-5, a sensibilizat alergenii şi a modificat eozinofilia şi reactivitatea căilor respiratorii. S-a demonstrat o asociere directă între LyTh-2 CD_{4+} activate antigenic în plămânul şoarecilor deficienţi în IL-5 şi inducerea eozinofiliei sanguine, a eozinofiliei căilor respiratorii, precum şi cu funcţia pulmonară afectată. Există diferenţe genetice privind dependenţa absolută sau relativă a eozinofiliei de IL-5.

Utilizarea anticorpilor anti-IL-5 în tratamentul astmului bronşic este controversată [31].

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat experimental că ***blocarea IL-13 inhibă răspunsul alergenic***. Deşi numai IL-4 poate produce diferenţierea LyTh-2 şi proliferarea LyT (LyT nu pot exprima receptori pentru IL-13), atât IL-4, cât şi IL-13 pot induce clasa izotipului comutator (la om), crescând expresia VCAM-1, producţia de Eotaxin şi stimularea 15-lipoxigenazei. IL-13, dar nu şi IL-4, poate activa mastocitele şi prelungi supravieţuirea eozinofilului în ţesuturi.

IL-4 poate transmite semnalul biologic intracelular printr-un ***receptor heterodimer IL-4R-α/IL-13R-α***. Inducerea răspunsului alergic este mediată de IL-4, dar numai după o sensibilizare care este esenţială, IL-13 poate susţine răspunsul alergic.

Pornind de la aceste date, s-au realizat studii experimentale, utilizând Ac anti-IL-4 sau Ac anti-IL-4R-α pentru blocarea IL-13. În timpul acestor studii experimentale, interferarea cu IL-4 în timpul fazei de sensibilizare a fost asociată cu o scădere a eozinofiliei căilor respiratorii şi cu scăderea hiperreactivităţii căilor respiratorii, după expunerea la alergen. Interferarea cu acţiunea IL-4 poate fi mai puţin eficientă dacă sensibilizarea deja s-a produs. Dimpotrivă, utilizând Ac anti-IL-4R-α (care inhibă semnalul post receptor atât pentru IL-4, cât şi pentru IL-13) sau blocada IL-13, utilizând lanţul IL-13R-α-2, înaintea sensibilizării, s-a inhibat dezvoltarea hiperreactivităţii căilor respiratorii, eozinofilia şi hipersecreţia de mucus. Deşi mecanismele exacte prin care IL-13 reglează faza efectoare a răspunsului alergic nu sunt cunoscute, această citokină poate fi considerată o nouă *ţintă terapeutică*.

Rezultatele cele mai bune în tratamentul astmului bronşic s-au obţinut, însă, cu antagonişti ai lanţului IL-4R-α [74].

A fost reanalizat echilibrul între răspunsurile LyTh-1 şi LyTh-2 şi dezvoltarea astmului alergic (Sanjiv Sur, martie 2000, citat bibl. 74).

Deşi terapiile cu IL-4, IL-5 şi IL-13 pot scade răspunsurile LyTh-2, pot fi utilizate şi alte modalităţi terapeutice, prin influenţarea răspunsurilor LyTh-1. Astfel, este cunoscut faptul că **IL-12 şi IL-18 induc producţia de IFN-γ.** Deşi în cercetările experimentale pe animale de laborator, IFN-γ şi IL-12 reduc semnificativ eozinofilia pulmonară şi a căilor respiratorii şi scad hiperreactivitatea căilor respiratorii, studiile pe subiecţi umani astmatici nu au evidenţiat o ameliorare a simptomelor, dar s-a demonstrat că cele două citokine au condus la o semnificativă scădere a efectelor adverse ale medicamentelor utilizate în tratamentul astmului bronşic. Folosind model experimental de astm bronşic pe şoarece, asocierea IL-12 cu IL-18 a

Scanned with OKEN Scanner

demonstrat o puternică activitate de inhibare a inflamației alergice. Administrarea de IL-18 a crescut, însă, sensibilizarea alergică [100].

Creşterea răspunsului LyTh-1 se poate realiza prin administrarea de IL-12, fie împreună cu alergenul, fie cu respectarea unui anumit timp de expunere naturală la alergen. Alte modalități de influențare a răspunsului alergenic constau în inducerea producției endogene de IL-12 şi IL-18, prin tehnici de ADN recombinant [72, 74].

În ultimii ani s-au impus cercetările privind ***VACCINURILE PENTRU PREVENIREA ŞI TRATAMENTUL ASTMULUI BRONŞIC***, şi anume: ***vaccinurile ADN pentru profilaxia şi tratamentul astmului bronşic*** [Arthur Krieg, martie 2000, citat bibl. 31].

Secvențele nemetilate CpG (conținând central o citosină legată printr-un radical fosforic de o guanină) sunt puternic îmbogățite cu ADN bacterian, în cursul unor infecții. Deoarece regiunea CpG umană are o frecvență scăzută, majoritatea porțiunilor CpG umane sunt metilate.

La om, SI înnăscut a evoluat, probabil, în ceea ce priveşte capacitatea de a detecta infecția bacteriană, prin distingerea ADN bacterian (îmbogățit în porțiuni CpG ADN nemetilate) de ADN uman (cu majoritatea porțiunilor CpG metilate). Aceste porțiuni CpG pot activa SI înnăscut (prin stimularea celulelor dendritice, a macrofagelor, celulelor NK), pentru expresia citokinelor (IL-12, IL-18, IFN-γ), care stimulează răspunsul LyT la antigenele proteice, pentru a genera un răspuns al LyTh-1 (IFN-γ), care ar putea fi benefic în apărarea față de infecții (cum ar fi, de exemplu, cele produse de micobacterii).

Un mare număr de grupe de cercetare au lucrat la sinteza unor compuşi care "se opun" porțiunilor CpG derivate bacteriene şi care ar putea activa SI înnăscut, pentru a genera un răspuns al LyTh-1 – LyTh-2 [31]. S-a constatat că eliberarea porțiunilor CpG inhibă hiperreactivitatea căilor aeriene, producția de citokine a LyTh-2 şi inflamația cu acumulare de eozinofile a căilor aeriene, pe modelele experimentale cu astm bronşic la şoarece. Efectul porțiunilor CpG pe reducerea "traficului" de eozinofile la nivelul plămînului este datorat unei inhibări a generării medulare şi eliberării de eozinofile. O doză unică de secvențe CpG inhibă răspunsul astmatic pe modele de şoarece, pentru cel puțin şase săptămâni.

În studii comparative ale efectului GCS şi, respectiv, CpG, pe modele de şoarece cu astm bronşic, atât GCS, cât şi CpG inhibă expresia citokinelor produse de LyTh-2, dar numai CpG induce puternic RI al LyTh-1. Astfel, numai **CpG este capabilă să redirecționeze RI de la LyTh-2 la LyTh-1**. CpG, de asemenea, inhibă generarea de IL-4 de către LyTh-2 şi răspunsurile

Scanned with OKEN Scanner

IgE la alergenii inhalaţi. Aceste CpG nu sunt eficiente numai la şoareci, ci şi la nivelul celulelor umane, atât *in vitro*, cât şi *in vivo*. CpG activează celulele mononucleare din sângele periferic uman, pentru generarea de citokine ale LyTh-1 şi inhibă sintezele de IgE.

CpG conjugat cu un alergen proteic reduce reactivitatea la testele cutanate de 100-1000 ori.

CpG prezintă importanţă în imunoterapia astmului bronşic şi a altor inflamaţii alergice. Dezavantajele imunoterapiei cu CpG în astmul bronşic constau în: inducerea Ac anti-ADN şi a autoimunităţii.

S-a sugerat ipoteza că infecţiile bacteriene la copii induc răspunsurile LyTh-1, care realizează şi protecţia faţă de activarea LyTh-2 şi faţă de reacţiile alergice [31]. Dr. Arthur Krieg şi colab. [martie 2000, citat bibl. 31] au sugerat că instituirea precoce a unei terapii cu antibiotice la copiii cu infecţii bacteriene poate bloca aceste răspunsuri naturale ale LyTh-1, la copiii respectivi. În plus, vaccinurile administrate în mod curent în timpul copilăriei încorporează ca adjuvant aluminiul, care conduce la cele mai bune răspunsuri imune, după administrarea vaccinurilor. Aluminiul este un puternic inductor al răspunsurilor LyTh-2, vaccinurile conţinând aluminiu putând, deci, să contribuie, de asemenea, la predispoziţia SI către LyTh-2 în copilărie.

Deoarece imunizarea în copilărie este esenţială pentru prevenirea bolilor infecţioase, Dr. A. Krieg a sugerat că ar trebui evaluată eficienţa vaccinurilor asociate cu CpG, în copilărie, comparativ cu utilizarea aluminiului ca adjuvant al acestor vaccinuri [citat bibl. 31]. În sprijinul acestei ipoteze, se poate menţiona utilizarea CpG ca un adjuvant al vaccinului anti-hepatită B, pe modele experimentale folosind primatele. La aceste modele experimentale, CpG a produs o creştere semnificativă a răspunsului în Ac, după vaccinul anti-hepatită B, stimulând răspunsul LyTh-1. Este necesară *studierea în continuare a vaccinurilor care conţin aluminiu şi stabilirea la care dintre acestea este posibilă reformularea cu adjuvanţi care să stimuleze LyTh-1, cum ar fi, CpG.*

Scanned with OKEN Scanner

TERAPIA CU CITOKINE A TUMORILOR [105]

În terapia antitumorală sunt indicate următoarele citokine [80, 105]:

- **IFNα şi β**: sunt indicate în tratamentul leucemiei cu "celule păroase", unde produc remisiuni prelungite. Acţionează ca citostatice, produc o expresie crescută a MHC de clasă I.
- **IFN-γ**: este indicat în tratamentul carcinomului ovarian. Produce remisiuni importante. Acţionează ca citostatic. Activează LyT. Determină o expresie crescută a MHC de clasă I şi II.
- **TNF-α**: este indicat în tratamentul unor variate tipuri de tumori, producând reducerea volumului tumorii. Acţionează ca citostatic. Activează limfocitele.
- **IL-2**: este eficientă în tratamentul melanomului, producând remisiuni importante. Activează LyT şi celulele NK.

IL-2 şi IFN-γ sunt asociate în tratamentul carcinomului renal, unde produc remisiune. Activează LyT şi celulele NK.

c) Extracte din produse biologice umane

- ***IMMODIN-SEVAC*** este un extract leucocitar dializat (DLE), obţinut din sângele uman, ultrafiltrat (1 ml corespunde la o concentraţie de 125 x 10^6 leucocite) şi liofilizat [253].

O unitate a fost definită ca materialul dializabil obţinut din 1,25 x 10^8 leucocite.

Date experimentale demonstrează că DLE stimulează formarea coloniilor GM-CSF *in vitro*, datorită cooperării între CSF şi DLE în timpul cultivării, fenomen dependent de concentraţiile DLE în leucocite.

Este **indicată** administrarea *in vivo* a DLE, alături de G-CSF, respectiv, GM-CSF. Date experimentale preliminare indică însă faptul că şi o injectare singulară de DLE la şoareci, după expunerea la raze gamma, produce o creştere semnificativă a nivelurilor medulare în progenitori ai GM-CSF.

d) Imunomodulatori monobacterieni

Primele observaţii asupra imunomodulatorilor bacterieni sunt, probabil, cele ale lui A.J. Clark şi colaboratorii care, în 1922, au constatat că injectarea de coci gram-pozitivi omorâţi are efect stimulator asupra producerii de aglutinine [citaţi de Munoz J.J. şi colaboratorii, în 1964, citaţi bibl. 148]. Efecte similare au fost notate ulterior pentru *Salmonellae, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Shigella disenteriae*, bacilul *Koch* [148].

Scanned with OKEN Scanner

În 1954, Evans C.H. şi colaboratorii [citaţi bibl. 148], inoculând intraperitoneal o singură doză de *Bordetella pertussis*, au produs o imunitate bifazică (precoce şi tardivă). Imunitatea "precoce", detectabilă la 5 ore după inoculare, se menţine maximum 10 zile şi apoi scade, iar imunitatea "tardivă" (mediată de anticorpi) începe să fie datectabilă după 10-14 zile [148]. În cazul *Bordetellei pertussis*, Ido Kusomo şi colaboratorii întrevăd, în 1962, posibilitatea producerii de anticorpi precoce, în cantitate foarte mică şi nedetectabili prin metodele uzuale, anticorpi care ar avea rol în aşa-numita imunitate "precoce" [citaţi bibl. 148].

În 1971, Ido Kusomo şi colaboratorii comunică date despre stimularea nespecifică, prin endotoxine heterologe [citaţi bibl. 148]. De asemenea, acelaşi grup de autori menţionează proprietăţile terapeutice ale unui ARN sintetic ("poly-IC"), capabil să producă o creştere a rezistenţei antiinfecţioase a animalelor de laborator [148].

• ***BACILUL CALMETTE-GUÉRIN (BCG)*** este o tulpină viabilă de *Mycobacterium bovis*, care a fost utilizată pentru imunizare împotriva tuberculozei. De asemenea, a fost utilizat ca adjuvant nespecific în terapia antineoplazică şi în terapia antineoplazică în cancerul incipient de vezică urinară [123, 148, 263].

Acţiunea BCG constă, cel puţin parţial, în activarea macrofagelor, mărindu-le efectul citocid. De asemenea, BCG stimulează limfocitele T şi limfocitele B şi activitatea celulelor NK.

BCG prezintă următoarele **indicaţii terapeutice**:

- leucemii;
- melanom;
- cancer de sân;
- tumori digestive;
- limfoame nonhodgkiniene;
- cancer bronşic;
- cancer laringian.

Contraindicaţiile sunt următoarele:

- agamaglobulinemii;
- aplazie medulară;
- tuberculoză activă sau în antecedentele bolnavului.

Reacţiile adverse sunt reprezentate de:

- eritem, edem şi cruste la locul scarificării (pentru administrarea BCG);
- stare de curbatură;

- febră;
- uşoară splenomegalie.

Se administrează prin scarificare. Locul şi ritmul de administrare rămân la aprecierea medicului curant.

BCG este condiţionat în flacoane conţinând 0,5 ml suspensie de bacili Calmette-Guérin vii, în soluţie de glutamat de sodiu, în concentraţie standard. Este produs de Institutul Cantacuzino, Bucureşti.

A fost obţinut un derivat din peretele celular al BCG, cu structură chimică definită, denumit (Lys^{18})-muramil-dipeptid, folosit în Japonia pentru refacerea măduvei osoase, după chimioterapia anticanceroasă. Acest derivat stimulează activitatea macrofagelor, crescând eliberarea unor citokine, şi anume: IL-1, factorii stimulatori de colonii şi TNF.

• ***CORYNEBACTERIUM PARVUM***

Imunomodulatorul "Sre Corynebacterium parvum" este o suspensie de *Corynebacterium parvum* în ser fiziologic, având o concentraţie standard de germeni/ml [148].

Corynebacterium parvum are următoarele **efecte** asupra sistemului imunitar:

- activează macrofagele, stimulând eliberarea unor citokine, şi anume: IL-1, factorii stimulatori de colonii, TNF, IFN;
- stimulează activitatea limfoicitelor Ts.

Prezintă următoarele **indicaţii** terapeutice:

- adjuvant în tratamentul unor neoplazii: leucemii, tumori matastatice sau recidivante (melanom, cancer de sân, tumori digestive, limfoame nonhodgkiniene, cancer bronşic, cancer laringian);
- adjuvant în terapia unor imunodeficienţe secundare.

Contraindicaţiile acestui produs sunt următoarele:

- perioada terminală a unui neoplasm;
- caşexie;
- stări febrile.

Se administrează subcutan, în doze progresive: 0,1-0,3-0,5-0,7-1 ml, câte 2-3 inoculări săptămânal. Se continuă cu doza de 1 ml până când se administrează 10 injecţii. Urmează încă o serie de 10 injecţii, făcute la interval de o săptămână, apoi se continuă cu o fiolă la două săptămâni, vreme îndelungată (1-2 ani sau mai mult).

Pot apare următoarele **reacţii adverse**: eritem, indurație şi dureri locale. În cazul apariţiei acestor reacţii la administrarea uneia din doze, se amână inocularea dozei următoare şi se revine la doza anterioară.

Scanned with OKEN Scanner

"Sre Corynebacterium parvum" este condiționat în fiole conținând 1 ml de *C.parvum* în ser fiziologic și este produs de Institutul Cantacuzino din București.

Se află în stadiul experimentului de laborator diferite preparate de *C.parvum* cu germeni omorâți, precum și preparate cu tulpini anaerobe de *Corynebaterium*, a căror eficiență se pare că ar fi crescută în imunoterapia anticanceroasă.

• ***DUCTON***, preparat al "Casei Sarbach", are la bază un lizat glicocolic de *Neisseria per flava* [148].

Prezintă următoarele **efecte** pe sistemul imunitar:

- stimulează capacitatea de fagocitoză și bactericidă a macrofagelor și a neutrofilelor (în diluții 1/10000);
- crește transformarea limfoblastică indusă de PHA (în diluții de 1/1000000), dar nu are proprietați antigenice.

Ducton are următoarele **indicații** terapeutice:

- asociat cu antibiotice, în episoade febrile de diferite etiologii, angine, traheobronșite;
- postoperator, după intervenții chirurgicale pentru: ulcere gastro-duodenale, colecistectomii, hemoroizi, fisuri anale.

Se poate administra pe cale intramusculară și în perfuzii, în diluție cu ser glucozat izotonic. De asemenea, se poate aplica sub forma unor tratamente locale în: hemoroizi operați și cicatrici postoperatorii.

Produsul se asociază antibioticelor și chimioterapicelor folosite în terapia afecțiunilor respective.Durata medie de tratament cu Ducton este de 2 zile.

• ***DEODAN*** este un imunomodulator monobacterian, cu administrare orală, obținut din *Lactobacillus bulgaricus*, tulpina LyB 51, selectată în 1951, preparat și comercializat pe teritoriul Bulgariei [132, 148]. Principiul activ este un glicopeptid cu o GM de aproximativ 10.000 daltoni, conținând aminozaharuri, aminoacizi, glucoză, galactoză, acizi glicero-fosfat-teichoici și muramil-peptide [Bogdanov și colab., 1975; Ivanov și colab., 1987; citați bibl. 132].

Deodan prezintă următoarele **efecte** asupra sistemului imunitar:

- stimulează producția de IL-2;
- activează macrofagele și induce sinteza de IL-1 și TNFα;
- stimulează leucopoeza și trombocitopoeza;
- stimulează producția de factori stimulatori de colonii celulare;

Scanned with OKEN Scanner

- creşte resistenţa generală la infecţii şi, în special, la infecţiile cu *Klebsiella pneumoniae*.

Administrat experimental pe animale de laborator, împreună cu LPS, Deodan a stimulat şi producţia de TNF-alfa.

Prezintă următoarea **indicaţie** terapeutică: adjuvant în cazurile cu leucopenie determinată de chimioterapia antineoplazică.

Efecte adverse: pirogenicitate, hipotensiune arterială.

• ***BIOSTIM***, produs în Franţa, conţine glicoproteine extrase dintr-o tulpină patogenă de *Klebsiella pneumoniae*, reţinute pe membrane cu porozitate medie şi exprimate în preparat în formă anhidră [148].

Biostim prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează activitatea fagocitară a macrofagelor şi a neutrofilelor;
- activează complementul;
- stimulează maturarea limfocitelor B şi producţia de Ig;
- creşte efectele citotoxice ale limfocitelor Tc şi ale celulelor NK;
- creşte rezistenţa la infecţii cu virusuri şi bacterii cu dezvoltare extra- sau intracelulară.

Utilizat în prevenirea recidivelor infecţiilor cronice ale aparatului respirator, Biostim-ul şi-a dovedit eficienţa în următoarele situaţii:

- diminuarea riscurilor de recidive infecţioase;
- scurtarea puseelor de supuraţie bronşică.

Prezintă următoarele **indicaţii**:

- tratamentul profilactic al suprainfecţiilor din bronhopneumopatiile cronice obstructive ale adultului;
- adjuvant al terapiei clasice cu antibiotice în supuraţiile bronşice.

Biostim este un imunomodulator cu administrare orală, comercializat din anul 1982.

Se prezintă sub formă de comprimate de 1 mg sau 8 mg.

• ***CANTASTIM***, produs al Institutului Cantacuzino, Bucureşti, are la bază molecule fosfolipidice extrase dintr-o tulpină patogenă de *Pseudomonas aeruginosa* [148, 189].

Prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează activitatea macrofagelor şi creşte efectul lor citostatic;
- stimulează eliberarea de către macrofage a unor citokine, şi anume: IL-1, factorii stimulatori de colonii, TNF, IFN;
- stimulează diferenţierea limfocitelor Ts.

Scanned with OKEN Scanner

Cantastim are următoarele **indicaţii**:

- imunodepresii instalate sau cazuri izolate de deficit imunitar;
- preoperator, înaintea intervenţiilor chirurgicale cu risc de infecţii postoperatorii;
- parodontoze cronice;
- infecţii virale;
- infecţii bacteriene cronice rebele la terapia uzuală;
- stafilococii cutanate recidivante;
- leucemii cu celule T;
- leucemii cu celule B;
- neoplazii uterine, ovariene, mamare sau pulmonare.

În prevenirea infecţiilor postoperatorii se inoculează subcutanat 1 ml produs, cu 4-5 zile înainte de operaţie şi, dacă medicul consideră că este necesar, se poate repeta inocularea la 2-3 zile de la operaţie.

La copiii cu deficit imun, exprimat clinic sub forma unor infecţii grave, în peritonite, neoplazii etc., se fac 5-6 administrări pe cale subcutanată, a câte 0,5 ml Cantastim, la 5-6 zile interval între injecţii.

La pacienţii cu afecţiuni infecţioase cronice se asociază inocularea Cantastimului cu autovaccinul respectiv.

În leucemii cronice sau tumori solide, se inoculează subcutanat 1 ml produs, la interval de 7 zile între inoculări, în serii de câte 10 inoculări. După terminarea seriei de 10 injecţii, se face o pauză de 50-60 de zile, putându-se relua, dacă este cazul, inoculările.

Ca **efecte adverse** se pot semnala, la unii pacienţi cu tumori solide, congestii la locul inoculării, febră, dureri la nivelul tumorii primare sau metastazelor. Unii autori consideră aceste reacţii de bun augur.

Produsul nu are contraindicaţii, nefiind nici antigenic, nici alergizant. Poate fi administrat concomitent cu alte mijloace terapeutice.

Este condiţionat în fiole de 1 ml, conţinând 0,5 mg molecule fosfolpidice extrase dintr-o tulpină patogenă de *Pseudomonas aeruginosa*, sub formă de soluţie incoloră, inodoră, cu pH=7,0-7,2.

• ***URO-VAXOM (OM-8930)*** este un produs al Laboratoarelor OM, din Geneva, aparţinând imunomodulatorilor monobacterieni, cu administrare pe cale orală [73, 148]. Preparatul constă din extracte bacteriene din *Escherichia coli*, liofilizate şi introduse în capsule gelatinoase.

Uro-Vaxom prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează activitatea macrofagelor;
- determină o creştere semnificativă a macrofagelor peritoneale;

Scanned with OKEN Scanner

- stimulează oxidarea glucozei şi calea pentozo-fasfaţilor, producţia anionului superoxid şi a TNF la nivelul macrofagelor;
- creşte funcţia macrofagelor alveolare ca celule prezentatoare de antigen;
- stimulează celulele NK şi activitatea lor citostatică;
- stimulează activarea limfocitelor B şi creşte producţia de IgA, IgG şi IgM serice, precum şi producţia de IgA secretorii, în special la nivelul mucoasei intestinale;
- determină creşterea, dependent de doză, a secreţiei de IL-1 de către macrofage;
- stimulează producţia de PGE_2;
- stimulează plăcile Peyer intestinale;
- stimulează proliferarea limfocitelor T şi limfocitelor B;
- creşte activitatea limfoctelor T şi răspunsul acestora la stimularea cu Con A, PHA şi PWM;
- stimulează sinteza de IFN de către limfocitele T;
- creşte rezistenţa la infecţii.

Uro-Vaxom este **indicat** în tratamentul infecţiilor cronice ale tractului urinar şi în profilaxia recidivelor acestora. Produsul şi-a demonstrat eficienţa prin: reducerea bacteriuriei, ameliorarea disuriei, scăderea consumului de antibiotice/chimioterapice, reducerea frecvenţei, duratei şi severităţii recurenţelor.

Efectele adverse ale produsului sunt de mică intensitate şi rare, constând în tulburări gastro-intestinale tranzitorii.

Uro-Vaxom este condiţionat în capsule gelatinoase conţinând 6 mg extracte bacteriene din *E. coli*. Se administrează pe cale orală, pe nemâncate, câte o capsulă pe zi, zilnic, timp de 10 zile, în fiecare lună, 3 luni. În prima lună, imunomodulatorul se administrează asociat cu antibiotice/chimioterapice.

• ***PICIBANIL***, folosit în Japonia, conţine extracte din *Streptococcus pyogenes*. Stimulează activarea şi funcţiile macrofagelor şi ale celulelor NK, funcţiile LyT activate, diferenţierea şi funcţiile LyTs şi LyTh. Este **indicat** ca adjuvant în terapia neoplaziilor [148, 189].

• ***OM-89***, produs al Laboratoarelor OM, din Geneva, este un imunomodulator monobacterian, cu administrare pe cale orală, obţinut din *Escherichia coli*, **indicat** în prevenirea infecţiilor urinare şi în artrita reumatoidă.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre **efectele biologice**, se menţionează, în special, capacitatea acestui preparat de a modula producerea locală de citokine [148, 189].

• ***ALTE PREPARATE MONOBACTERIENE*** cu rol imunomodulator se află în diferite stadii experimentale:

Produsul OK 432, un extract din *Streptococcus pyogenes*, obţinut prin adăugarea la mediul de cultură a unei anumite concentraţii de Penicilina G [148]. Acest produs creşte activitatea macrofagelor şi a celulelor NK. Şi-a demonstrat eficienţa în clinica umană în următoarele situaţii fiziopatologice:

- tumori maligne cerebrale;
- tumori maligne ale gâtului;
- neoplazii gastro-intestinale;
- tumori pulmonare.

Preparate din peretele celular întreg sau fracţiuni ale acestuia, din următoarele microorganisme [148]:

- *Lysteria monocytogenes*
- *Salmonella typhimurium*
- *Brucella abortus*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- diferite tulpini de *Nocardia.*

Eventualele utilizări clinice ale tuturor acestor produse sunt limitate de gradul lor crescut de toxicitate.

• ***IMUVERT*** este un produs liofilizat obţinut din ribozomi de *Serratia marcescens* (Boulder, Colorado) [244].

Prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează activitatea fagocitară şi bactericidă a macrofagelor peritoneale de şoarece;
- stimulează producţia de IL-4 de către limfocitele T_{h-1};
- creşte rata supravieţuirii la şoarecii cu infecţie experimentală cu *Lysteria monocytogenes*, cytomegalovirus, *Leishmania major*;
- *in vitro*, determină o stimulare a producţiei de citokine: IL-1, IL-2, GM-CSF, TNF şi o creştere a activităţii celulelor NK.

În cercetările experimentale, Imuvert a fost administrat pe cale subcutanată.

Scanned with OKEN Scanner

e) Imunomodulatori polibacterieni

• ***VACCINUL POLIMICROBIAN***, denumit impropriu "vaccin", a fost utilizat iniţial ca piretoterapic [148]. Produsul dă naştere la o reacţie de focar, cu hiperemia ţesuturilor atinse de infecţie, iar în cazul infecţiilor cronice poate determina reacutizarea procesului. În sânge apar substanţe cu rol pirogen, care influenţează întregul organism.

Este realizat dintr-un amestec în părţi egale de cultură de streptococ (10 tulpini), stafilococ (10 tulpini) şi bacili piocianici (10 tulpini).

Stimulează rezistenţa nespecifică a organismului şi are efecte proinflamatoare.

Prezintă următoarele **indicaţii terapeutice**:

- procesele supurative;
- pelviperitonite;
- salpingite;
- metrite;
- anexite.

Se aplică în injecţii repetate doze progresive: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml (pe cale subcutanată), apoi, de la 0,4 ml la 1 ml, pe cale intramusculară.

Pot apare următoarele **efecte adverse**:

- reacţii locale: eritem, infiltrare;
- reacţii generale: febră peste 37°C, frison, cefalee generalizată.

Vaccinul polimicrobian are următoarele **contraindicaţii**:

- boli infecţioase acute şi convalescenţa lor;
- TBC evolutivă;
- reumatism poliarticular;
- cardiopatiile decompensate;
- nefropatii;
- diabet zaharat;
- graviditate;
- stări alergice etc.

Preparatul este condiţionat în fiole de 1 ml suspensie şi este produs de Institutul Cantacuzino Bucureşti.

• ***OMNADIN***, preparat "Hoechst", a fost unul dintre primele produse polibacteriene utilizat ca imunomodulatorn [148]. Este un hidrolizat de culturi din mai multe tulpini microbiene, omorâte prin căldură. Nu produce sensibilizări şi nu prezintă interacţiuni cu alte medicamente. Nu determină reacţie de focar.

Scanned with OKEN Scanner

Preparatul prezintă următoarele **efecte**:
- stimulează capacitatea de fagocitoză a neutrofilelor;
- stimulează capacitatea opsonică a serului şi capacitatea bactericidă a neutrofilelor;
- determină creşterea nivelurilor gama-globulinelor serice;
- stimulează proliferarea de limfocite B şi producerea de Ig;
- stimulează sistemul hipofizo-suprarenalian.

Acest preparat a dat rezultate foarte bune ca adjuvant în tratamentul infecţiilor bacteriene acute, alături de antibioterapia clasică. De asemenea, a fost utilizat cu succes, profilactic, în infecţiile virale, pentru a preveni complicaţiile prin suprainfecţie bacteriană [148].

Preparatul se administrează pe cale intramusculară.

În prezent, a fost înlocuit cu imunomodulatori mai selectivi.

• ***C.C.B.*** este un imunomodulator produs de Institutul Pasteur, Franţa [148].

Este **folosit** profilactic şi curativ în tratamentul următoarelor afecţiuni:
- rinofaringite acute şi cronice;
- sinuzite acute şi cronice;
- astmul bronşic;
- supuraţii cronice sau recidivante ale căilor respiratorii.

• ***IRS-19*** este un produs "Sarbach", Franţa., folosit în administrare locală, sub formă de aerosoli şi instilaţii nazale [148]. Prezintă următoarele **indicaţii**:
- sinuzite acute;
- bronşite acute;
- rinite acute;
- profilaxia infecţiilor acute ale căilor respiratorii superioare.

• ***EU-4800*** produs în Franţa, este folosit în administrare locală (aerosoli şi instilaţii nazale) [148]. Prezintă următoarele **indicaţii**:
- rinofaringite acute şi cronice;
- bronşite acute şi cronice;
- sinuzite acute şi cronice.

Scanned with OKEN Scanner

• ***STOMASINA*** este un imunomodulator produs în Italia [148]. Are o puternică acţiune de stimulare a activităţii macrofagelor. Este indicat ca adjuvant în terapia infecţiilor acute şi cronice ale căilor respiratorii superioare.

• ***DISIBIOTIN***, produs în Franţa, este utilizat cu bune rezultate în prevenirea infecţiilor intraspitaliceşti ale căilor respiratorii [148].

• ***REACTIN***, produs la Dessan, în Germania, este un imunomodulator utilizat ca adjuvant în terapia infecţiilor căilor respiratorii [148]. Prezintă următoarele **efecte** asupra sistemului imunitar:

- stimulează activitatea fagocitară şi efectul citolitic al macrofagelor;
- stimulează activitatea neutrofilelor.

• ***LANTIVAC*** este un produs polibacterian, sub formă coloidală, obţinut în Anglia [148]. Se administrează pe cale orală şi prezintă următoarele **indicaţii**:

- infecţiile catarale cu componentă alergică ale tractului respirator;
- profilaxia infecţiilor căilor respiratorii.

• ***LANTIGEN B*** este un produs polimicrobian cu administrare orală, obţinut în Anglia [148]. Prezintă următoarele **indicaţii**:

- cataruri;
- bronşite acute şi cronice;
- sinuzite acute şi cronice.

• ***LANTIGEN C*** este un produs polimicrobian cu administrare orală, obţinut în Anglia [148]. Este preparat din extracte coloidale de streptococ, stafilococ şi *Escherichia coli*.

Prezintă următoarele **efecte** asupra sistemului imunitar:

- stimulează capacitatea de fagocitoză a macrofagelor şi a neutrofilelor;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor B şi producţia de Ig.

Lantigen C are următoarele **indicaţii**:

- reumatismul cronic;
- nefrite;
- fibroze.

Scanned with OKEN Scanner

• ***PRODIGIOSAN***, produs în Rusia, este un preparat polimicrobian cu următoarele **indicaţii** terapeutice [148]:

- amigdalite cronice;
- parodontoze;
- ulceraţii prin iradiere;
- salpingoovarite.

• ***POLIDIN*** este un imunomodulator polibacterian, cu administrare pe cale injectabilă, produs de Institutul Cantacuzino, filiala Iaşi [148].

Experimentarea produsului a început la Iaşi, în anul 1958. Eficienţa deosebită a preparatului l-a menţinut pe piaţa medicamentelor în fruntea listei cu imunomodulatori, fiind considerat şi în prezent unul dintre cei mai buni, pentru indicaţiile sale.

Acest produs este un preparat polimicrobian, lizat parţial, constând dintr-un amestec de 13 tulpini microbiene (stafilococi, streptococi, *Klebsiella*, *E.coli*, *Neisseria catarrhalis*) omorâte prin căldură, suspendate în ser fiziologic biliat 1% şi fenolat 3%, în concentraţie finală de 48 milioane germeni/ml.

Polidinul are următoarele **efecte biologice**:

- creşte nivelul kininelor plasmatice;
- activează sistemul fibrinoplastic/fibrinolitic;
- creşte numărul leucocitelor circulante;
- creşte capacitatea de fagocitoză a macrofagelor şi stimulează producţia de IFN;
- creşte indicele opsono-citofagic şi activitatea bactericidă a neutrofilelor;
- activează complementul seric;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor B şi producţia de IgA şi IgG serice şi de IgA secretorii;
- creşte rezistenţa la infecţii.

Prezintă următoarele **indicaţii** terapeutice:

- profilactic, în gripă, rujeolă;
- rinofaringite acute, angine streptococice şi cu etiologie mixtă, bronşite acute şi cronice acutizate, adenoidite, viroze respiratorii, laringo-traheite acute;
- complicaţii infecţioase bronşice ale astmului bronşic;
- otite acute, sinuzite acute;

Scanned with OKEN Scanner

- metrite acute şi cronice acutizate, anexite acute şi cronice acutizate, pelviperitonite;
- infecţii urinare acute;
- postoperator, după intervenţiile pentru neoplazii ale tubului digestiv, hernii de disc.

I. Chiricuţă şi colaboratorii semnalează, în 1977, faptul că administrarea prelungită de Polidin, în doze obişnuite (1-2 fiole de 2 ml/zi), asociată sau nu cu un anticoagulant (de exemplu, Heparina), induce o scădere marcată a incidenţei metastatice (15%) [citaţi bibl. 148].

Polidinul este condiţionat în fiole cu 2 ml suspensie.

Se administrează subcutanat sau intramuscular, în doze zilnice de 2 ml, timp de 3-7 zile. La copiii sub un an se va administra în doze de 1 ml.

• ***PANODIN***, produs în Polonia, este un imunomodulator polibacterian, cu administrare injectabilă (intramusculară), cu efecte, indicaţii şi reacţii adverse asemănătoare cu cele ale preparatului Polidin [148].

• ***POLYSAN***, produs în Ungaria, este un imunomodulator polimicrobian cu administrare intramusculară, cu efecte, indicaţii şi reacţii adverse asemănătoare ale preparatului Polidin [148].

• ***BRONHODIN*** este un imunomodulator polibacterian, cu administrare parenterală, produs de Institutul Cantacuzino Iaşi [148]. Este obţinut din 9 tulpini bacteriene aparţinând unor specii mai frecvent întâlnite în etiologia infecţiilor nespecifice ale arborelui respirator (streptococi, stafilococi, *E.coli, Neisseria catarrhalis, Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa*), omorâte prin căldură şi lizate parţial cu bilă de bou, suspendate în proporţii determinate în soluţie salină izotonică biliată 1% şi fenolată 0,5%, cu o concentraţie finală de 3,5 miliarde germeni/ml (31,64 UOI/ml).

Se prezintă în cinci diluţii: concentrat (3,5 miliarde germeni/ml), 1/10, 1/100, 1/1000 şi 1/10000.

Bronhodin are următoarele **efecte biologice**:

- stimulează capacitatea de fagocitoză şi bactericidă a macrofagelor şi a neutrofilelor;
- stimulează producţia de IFN;
- stimulează capacitatea opsonică a serului;
- activează complementul seric;

Scanned with OKEN Scanner

- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor B şi producţia de IgA şi IgG;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T;
- creşte rezistenţa la infecţii.

Bronhodin prezintă următoarele **indicaţii**:

- profilaxia şi tratamentul infecţiilor căilor respiratorii: rinofaringite, sinuzite, bronşite asociate sau nu cu astm;
- complicaţiile postgripale;
- hiposensibilizarea persoanelor alergice la antigenele microbiene conţinute în produs.

Bronhodinul este **contraindicat** în următoarele situaţii:

- boli infecţioase acute şi convalescenţa acestora;
- TBC evolutivă;
- reumatismul articular acut;
- cardiopatii decompensate;
- insuficienţe hepatice;
- nefropatii;
- diabet zaharat.

Poate determina următoarele **reacţii adverse**: eritem, cefalee, febră.

Bronhodinul se administrează intradermic, astfel:

a) Pentru imunomodulare: se începe cu 0,1 ml din diluţia stabilită anterior prin test cutanat, apoi fiecare doză ulterioară este crescută progresiv cu 0,1-0,2 ml până la 1 ml, după care se trece la 0,2 ml din concentraţia imediat superioară, crescând doza progresiv, ca mai sus. Intervalul între injecţii este de 3-4 zile. Doza de întreţinere (1 ml Bronhodin nediluat) se va repeta de 4-5 ori, la interval de 7 zile.

b) Pentru tratamentul de hiposensibilizare: se folosesc doze mai mici decât cele folosite pentru imunomodulare, iar creşterea dozelor se face mai lent.

• ***AERODIN*** este un imunomodulator polibacterian cu administrare locală, sub formă de aerosoli şi instilaţii nazale, produs de Institutul Cantacuzino Iaşi [148]. Produsul este obţinut din 10 tulpini bacteriene implicate mai frecvent în etiologia infecţiilor nespecifice ale arborelui respirator (streptococi, stafilococi, *Klebsielle, E.coli, Neisseria catarrhalis, Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa şi Proteus* OX_{19}), omorâte prin căldură, suspendate în proporţii determinate în soluţie salină izotonică biliată 1% şi mertiolată 1/40000, cu o concentraţie finală de 15 miliarde germeni/ml (134,4 UOI/ml).

Scanned with OKEN Scanner

Aerodinul prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează activarea macrofagelor pulmonare şi creşte efectul lor bactericid;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T;
- stimulează proliferarea si diferenţierea limfocitelor B şi producţia de IgA şi IgG serice, precum şi producţia de IgA secretorii;
- creşte rezistenţa la infecţiile respiratorii.

Aerodinul are următoarele **indicaţii**:

- prevenirea infecţiilor nespecifice ale căilor respiratorii: bronşite, laringite, angine, faringite, rinite, adenoidite, otite, sinuzite;
- postoperator, după intervenţiile chirurgicale ORL.

Aerodinul se administrează zilnic, sub formă de aerosoli sau instilaţii nazale (câte 3 picături în fiecare nară, de 3-4 ori/zi), timp de 12 zile. În perioadele de incidenţă crescută a infecţiilor respiratorii, administrarea se poate repeta după o pauză de 7-10 zile.

Produsul este condiţionat în fiole de 1 ml (pentru instilaţii) şi de 5 ml (pentru aerosoli), conţinând suspensie polimicrobiană parţial lizată în soluţie salină izotonică.

• ***IBC-10***, produs al Institutului Cantacuzino, Iaşi, este obţinut dintr-un amestec de 9 tulpini bacteriene parţial lizate, provenite din flora patogenă dominantă a mucoaselor şi tegumentelor, combinat cu antigen dezintegrat de *Candida albicans* [148]. Concentraţia finală a produsului este de 100 milioane germeni/ml.

Produsul este inactivat prin căldură.

IBC-10 are următoarele **efecte biologice**:

- stimulează capacitatea de fagocitoză a macrofagelor;
- stimulează activarea neutrofilelor şi creşte capacitatea lor de fagocitoză, precum şi capacitatea bactericidă;
- creşte capacitatea opsonică a serului;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T şi a limfocitelor B;
- creşte producţia de IgA şi IgG serice şi producţia de IgA secretorii.

Produsul prezintă următoarele **indicaţii**:

- infecţii cronice bacteriene şi micotice localizate sau generalizate;
- candidoze ale mucoaselor;
- manifestări alergice respiratorii şi cutanate.

Scanned with OKEN Scanner

Contraindicaţiile acestui produs sunt următoarele:
- TBC;
- hepatita epidemică;
- hepatitele cronice;
- nefrite;
- endocardite;
- miocardite;
- insuficienţa cardiacă;
- diabetul zaharat.

Se administrează asociat cu antibiotice şi antimicotice indicate în afecţiunile respective. Administrarea se face în partea exterioară a braţului, strict intradermic, distribuind 0,2 ml în patru puncte separate (câte 0,05 ml pe punct, distanţate la 1-2 cm). Apariţia reacţiei locale, imediate sau întârziate, de tip papulă, cu diametrul mai mare de 0,5-0,6 cm, dă un prgnostic favorabil tratamentului. Tratamentul complet cu IBC-10, atât pentru copii, cât şi pentru adulţi, constă în 10 administrări la interval de 3-4 zile între administrări. În cazurile rebele se indică repetarea bianuală a curei (toamna şi primăvara), timp de 2 ani consecutiv. La persoanele cu antecedente alergice, se indică tratarea printr-o singură inoculare intradermică de 0,05 ml.

Reacţiile adverse sunt rare şi individuale. Se pot manifesta printr-o exacerbare a eritemului şi edemului local.

• ***BRONCHO-VAXOM (OM-85 BV)***, produs de Laboratoarele OM din Geneva, este un imunomodulator polibacterian, cu administrare orală [148].

Preparatul constă dintr-un lizat bacterian liofilizat şi încapsulat de *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* şi *K.ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* şi *S.viridans*, *Neisseria catarrhalis*.

Produsul prezintă următoarele **efecte biologice**:
- stimulează răspunsul proliferativ al limfoblaştilor la mitogenele PHA şi PWM;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor B şi producţia de IgA, IgM şi IgG serice, precum şi producţia de IgA salivare;
- stimulează prolierarea, diferenţierea şi activarea limfocitelor T-antigen reactive, la nivelul mucoaselor şi la nivel central în sistemul imunitar.

Scanned with OKEN Scanner

Broncho-Vaxom are următoarele **indicaţii**:

- bronşite acute şi cronice;
- angine, amigdalite, laringite, faringite, rinite, sinuzite, otite (acute şi cronice);
- infecţii refractare la terapia obişnuită;
- complicaţii bacteriene ale afecţiunilor virale respiratorii (mai ales la copii şi bătrâni);
- profilactic, pentru prevenirea recidivelor sau a cronicizării infecţiilor acute;
- asociat cu antibiotice/chimioterapice, ca adjuvant în terapia recidivelor sau a infecţiilor cronice, cu etiologie bacteriană.

Reacţiile adverse ale preparatului sunt următoarele:

- tulburări digestive minore;
- reacţii alergice, cu manifestări cutanate (foarte rar).

Este **contraindicat** în:

- infecţii intestinale acute;
- alergie la una din componente;
- sarcina, mai ales în trimestrul I.

Medicamentele imunosupresoare pot antagoniza efectele Broncho-Vaxom-ului.

Se administrează pe cale orală, astfel:

- la adulţi, în infecţiile acute, câte o capsulă de 7 mg/zi, (pe nemâncate), cel puţin 10 zile; pentru consolidarea efectului, 1 capsulă/zi, timp de 10 zile, în fiecare lună, 3 luni;
- la copii, câte o capsulă de 3,5 mg/zi, conform aceleiaşi scheme de tratament ca şi pentru adulţi.

La copii, capsulele se pot desface şi pulberea poate fi administrată în suc de fructe sau lapte.

Broncho-Vaxom este condiţionat sub formă de capsule, astfel:

- capsule conţinând 7 mg de liofilizat bacterian, pentru adulţi;
- capsule conţinând 3,5 mg liofilizat bacterian, pentru copii.

Preparatul este disponibil sub următoarele 3 nume comerciale:

- Broncho-Vaxom®, produs de Laboratoarele OM, în Elveţia şi Portugalia, produs de Byk Gulden, în Germania, Italia şi Austria şi de Fournier Pharma, în Belgia;
- Imocur®, produs de Laboratoarele Fournier, în Franţa;
- Broncho-Munal®, produs de Institutul Gentili, în Italia şi de Deutsche OM, în Germania.

Scanned with OKEN Scanner

• ***OROSTIM***, produs de Institutul Cantacuzino Iaşi, este un imunomodulator polibacterian cu administrare orală [148]. Este obţinut prin amestecul a 10 tulpini bacteriene, cel mai frecvent implicate în infecţiile tractului respirator şi uro-genital, pe teritoriul României (stafilococi, streptococi, *Klebsiella, Escherichia coli, Neisseria catarrhalis, Haemophilus influenzae, Serratia marcescens*). Tulpinile bacteriene sunt omorâte prin căldură. Suspensia microbiană finală, cu o concentraţie de 3×10^9 germeni/ml soluţie salină, este ultrasonicată şi atomizată. Pulberea obţinută este încapsulată în capsule enterosolubile.

Orostim prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează proliferarea şi activarea macrofagelor, acţiunea lor fagocitară şi bactericidă;
- creşte activitatea opsonică a serului;
- stimulează proliferarea şi capacitatea fagocitară şi bactericidă a neutrofilelor;
- stimulează activarea complementului seric;
- stimulează proliferare şi diferenţierea limfocitelor B, producţia de IgA, IgG şi IgM serice, precum şi producţia de IgA secretorii;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T;
- creşte rezistenţa la infecţii.

Produsul prezintă următoarele **indicaţii**:

- adjuvant în tratamentul infecţiilor cronice recurente şi a celor refractare la tratamentul clasic cu antibiotice/chimioterapice: la nivelul căilor respiratorii (rinite, angine, faringite, laringite, bronşite), în otite, sinuzite, bronhopneumopatii cronice obstructive, afecţiuni cronice uro-genitale;
- adjuvant în terapia astmului bronşic, cu evoluţie îndelungată;
- prevenirea recidivelor şi cronicizării în infecţiile acute ale tractului respirator şi uro-genital.

Orostim şi-a dovedit eficienţa în evoluţia clinică a bolnavilor trataţi prin: reducerea numărului de acutizări pe parcursul unui an, atenuarea simptomatologiei perioadelor acute şi a duratei acestora, scăderea consumului de antibiotice/chimioterapice.

Contraindicaţiile produsului sunt următoarele:

- tuberculoză;
- insuficienţă hepatică;
- nefrite;
- endocardite;
- miocardite;

Scanned with OKEN Scanner

- insuficienţă cardiacă;
- diabet zaharat.

Efectele adverse sunt rare şi de mică intensitate, constând în: cefalee şi tulburări gastro-intestinale tranzitorii.

Orostim se administrează pe cale orală, cu o jumătate de oră înainte de masă, câte o capsulă/zi, 10 zile/lună, trei luni consecutiv. În prima lună produsul este asociat cu antibioterapia/chimioterapia corespunzătoare afecţiunii respective. În cazurile refractare, schema terapeutică se poate repeta, cu intervale de 6 luni între cure, timp de 2 ani.

La copiii până la 7 ani, se vor administra 5 capsule/cură, câte o capsulă la interval de 2 zile, 3 luni consecutiv.

Produsul se prezintă sub formă de capsule de 250 mg, conţinând 15 mg substanţă activă.

• ***UROSTIM***, produs în Bulgaria, este un imunomodulator cu administare pe cale orală, constând dintr-un amestec de 4 tulpini bacteriene, parţial lizate şi liofilizate: *Escherichie coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* şi *Enterococcus faecalis*. Proporţia celulelor bacteriene în produs este: 7,5/7,5/1/1. Preparatul se află în stadiul experimentului de laborator [73, 148, 179].

S-au constat următoarele **efecte biologice** ale Urostimului:

- stimulează proliferarea şi capacitatea de fagocitoză a macrofagelor peritoneale;
- stimulează formarea anticorpilor hemaglutinanţi serici;
- creşte numărul celulelor splenice formatoare de plaje de hemoliză Jerne;
- stimulează proliferarea limfoblaştilor indusă de PHA;
- creşte numărul limfocitelor în sângele periferic;
- induce o protecţie activă la şoareci, faţă de infecţiile experimentale cu *E.coli* şi *P.mirabilis*, agenţi etiologici cunoscuţi în infecţiile tractului urinar.

Produsul a fost administrat animalelor de laborator pe cale orală, timp de 5 sau 10 zile, în doze de 15 mg în 50 microlitri tampon fosfat salin pentru şoareci şi 50 mg în 0,5 ml tampon fosfat salin pentru cobai. Toate efectele apar după 5 zile de tratament, cu excepţia protecţiei faţă de infecţia experimentală, care se instalează după 10 zile de tratament.

Datele experimentale susţin eficienţa acestui imunomodulator în tratamentul infecţiilor urinare, cronice şi recurente, care necesită spitalizări

Scanned with OKEN Scanner

repetate şi consum crescut de antibiotice/chimioterapice şi care deprimă imunitar bolnavii respectivi.

• ***LW 50020***, produs în Germania, este un imunomodulator cu administare pe cale orală, constând dintr-un amestec lizat de 7 tulpini bacteriene, potenţial patogene pentru tractul respirator: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus mitis*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* şi *Branhamella catharrhalis* [148].

Lizatul conţine o concentraţie de cel puţin 10^9 bacterii din fiecare tulpină. Este condiţionat sub formă de tablete, fiecare tabletă conţinând 3 mg substanţă activă.

Prezintă următoarele **efecte biologice**:

- pe modele animale (şoareci), determină creşterea rezistenţei la infecţia experimentală cu *S. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* şi virusul gripal;
- stimulează activitea macrofagelor alveolare;
- scade nivelul elastazei în lichidul de spălare bronho-alveolară;
- stimulează capacitatea oxidativă a PMN;
- creşte nivelurile de IgA serice şi salivare.

În clinica umană este **indicat** ca medicament adjuvant pentru tratamentul infecţiilor recurente ale căilor respiratorii, într-o schemă care include 3 perioade a câte 28 de zile: în prima perioadă, 1 tabletă pe zi, zilnic, a doua perioadă, fără tratament, iar în a treia perioadă, 1 tabletă pe zi, zilnic.

• ***UBENIMEX (Bestatin®)***

Este un dipeptid netoxic de origine bacteriană [81].

Activează celulele NK şi macrofagele, atât "in vitro" cât şi "in vivo".

Activitatea sa este mediată prin legarea la aminopeptidaza membranară.

Asociat cu chimioterapicele este **indicat** pentru a diminua recăderile şi a prelungi supravieţuirea la pacienţii cu leucemia acută.

Scanned with OKEN Scanner

f) Imunomodulatori din fracţiuni subcelulare bacteriene [127, 148]

• ***RIBOMUNYL***, produs în Laboratoarele Inava din Franţa, constituie o primă aplicaţie terapeutică la om a cercetării imunologice privind ribozomul bacterian şi proprietatea sa imunogenă. Ribomunyl este obţinut din ribozomi bacterieni ai principalelor tulpini bacteriene întâlnite în afecţiunile respiratorii: *Klebsiella pneumoniae, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae,* plus fracţiuni glicocproteice membranare din *Klebsiella pneumoniae.* Fracţiunile selectate induc un răspuns imunitar lărgit şi prelungit.

Ribomunyl prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează proliferarea şi activarea macrofagelor, creşte capacitatea lor de fagocitoză şi producţia de citokine;
- stimulează diferenţierea limfocitelor B şi producţia de IgG şi IgM;
- produce creşterea nivelurilor de IgA salivare la om: imunoglobuline anticorpi anti-*S.pyogenes,* anti-*S.pneumoniae,* anti-*K.pneumoniae,* anti-*H.influenzae;*
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T şi creşte producţia lor de citokine;
- creşte rezistenţa antiinfecţioasă faţă de virusuri şi bacterii.

Produsul prezintă următoarele **indicaţii** terapeutice:

- laringite acute şi cronice;
- rinofaringite acute şi cronice;
- angine;
- sinuzite acute şi cronice;
- otite;
- bronşite acute şi cronice;
- pneumonii bacteriene;
- bronhopneumopatii cronice;
- astm bronşic cu evoluţie îndelungată.

Tratamentul cu Ribomunyl este eficient prin următoarele aspecte:

- determină regresiunea mai rapidă a simptomatologiei;
- scade frecvenţa recidivelor;
- determină eradicarea florei patogene, cu respectarea echilibrului saprofit al căilor aeriene;
- scade frecvenţa cronicizărilor.

Ribomunyl se prezintă sub trei forme: soluţie pentru aerosoli, soluţie pentru administrare injectabilă şi comprimate pentru administrare pe cale

Scanned with OKEN Scanner

orală (conţinând trei părţi *S.pyogenes*/trei părţi *S.pneumoniae*/3,5 părţi *K.pneumoniae*/0,5 părţi *H.influenzae*).

În cazul administrării orale, se respectă următoarea schemă de tratament: câte un comprimat/zi, patru zile consecutiv pe săptămână, timp de trei săptămâni consecutiv. Comprimatele se administrează cu apă, între orele 7 şi 30 min. şi 9 şi 30 min., la aceeaşi oră pentru fiecare doză parţială, în zilele 1-4, 8-11 şi 15-18 ale perioadei de tratament [127].

• ***D_{53}*** este un alt produs polibacterian din fracţiuni subcelulare al Laboratoarelor Inava, Franţa, având în compoziţie fracţiuni ribozomale de: *Klebsielle pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* A_{12}, *Haemophilus influenzae* şi proteoglicani de *Klebsiella pneumoniae* [148].

Produsul D_{53} prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează proliferarea şi activarea macrofagelor, creşte capacitatea lor de fagocitoză şi producţia de citokine;
- stimulează diferenţierea limfocitelor B şi producţia de IgA, IgG şi IgM serice, precum şi IgA secretorii;
- stimulează activitatea limfocitelor T de la nivelul mucoaselor şi producţia lor de citokine (TGF-beta);
- creşte rezistenţa la infectiile virale şi bacteriene.

Produsul D_{53} are aceleaşi **indicaţii** ca şi Ribomunyl-ul.

Se administrează pe cale orală, câte o tabletă de 3 ori/zi, 4 zile/săptămână, 3 săptămâni. D_{53} este condiţionat sub formă de tablete, conţinând 0,25 mg fracţii ribozomale din tulpinile bacteriene menţionate.

Preparatul D_{53} este eficient în prevenirea infecţiilor postamigdalectomie. În acest scop, se administrează preoperator, conform schemei terapeutice de mai sus.

Efecte adverse ale imunomodulatorilor bacterieni

Administrarea repetată şi/sau îndelungată a imunomodulatorilor bacterieni induce modificări fiziopatologice, uneori foarte severe. Astfel, preparatele care conţin *Bordetella pertussis* cresc sensibilitatea anafilactică la animalele de laborator [L. Kind, 1957, H. Finger şi colab., 1972; citaţi bibl. 148].

Alte preparate bacteriene, cum ar fi *Corynebacterium parvum*, determină hipertrofii ale splinei şi ficatului, cu infiltraţii masive limfocitare şi histiocitare, cu aspecte toxice [B. Fisher, 1974; M. Roumiantzeff, 1975; citaţi bibl. 148]. Aceleaşi efecte determină B.C.G. [J. W. Shands, jr.,1969; F. Audibert, 1973; Jurczyk - Procyk S., 1976; citaţi bibl. 148].

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, unele date experimentale arată că extractele din peretele celular bacterian sunt toxice pentru animalele de laborator, semnalându-se artrite în urma tratamentului cu aceste preparate [C. M. Pearson,1961; F. Paronetto, 1972; O. Kohashi, 1976; citaţi bibl. 148].

În 1986, am realizat un experiment în cadrul colectivului condus de Dr. Silvia Hoişie de la laboratorul Institutului Cantacuzino din Iaşi, folosind Polidin standard, Polidin diluat 1/10, Polidin diluat 1/100 şi Polidin diluat 1/1000 şi asociat cu fracţiuni membranare din *Klebsiella pneumoniae*, adminstrate zilnic, timp de 65 zile, la şoareci, datele obţinute demonstrând hipertrofii ale splinei şi ficatului, cu infiltraţii limfocitare şi histiocitare. Polidinul standard şi cel asociat cu fracţiuni membranare din *Klebsiella pneumoniae* au provocat apariţia de abcese submandibulare, cu floră microbiană mixtă, precum şi inflamaţii în articulaţiile membrelor, demonstrând o scădere a apărării imunitare a animalelor de experienţă.

Administrarea îndelungată a preparatelor bacteriene sau folosirea unor doze prea mari pot determina, deci, o "paralizie" a diferitelor componente ale sistemului imunitar [studii experimentale personale; citate bibl. 148].

g) Polizaharidele fungice sunt "remedii populare", folosite de mult timp în ţările Asiei, împotriva cancerului. Ele au fost studiate pe larg în Japonia, unde au fost izolate trei principii active cu rol imunomodulator:

* Lentinan, un polizaharid extras şi izolat din *Lentinus edodes* (originar din Japonia);

* Krestin, o glicoproteină extrasă şi semipurificată din *Coriolus versicolor*;

* Schizophyllan (SPG), o moleculă polizaharidică, având greutate moleculară mică, obţinută prin ultrasonicare dintr-o moleculă polizaharidică având greutate moleculară mare, extrasă din *Schizophyllum commune*.

Dintre aceste trei polizaharide, Krestin şi Lentinan au fost aprobate de către Ministerul Sănătăţii din Japonia pentru a fi utilizate ca agenţi chimioterapici anticanceroşi şi ca imunomodulatori.

• ***LENTINAN*** este un beta-1,6-1,3-D-glucan, cu o GM = 300.000-800.000, cu formula moleculară definită: $(C_6H_{10}O_5)_n$ şi are o structură triplu-helicală [30, 148, 151, 158, 160]. Lentinan prezintă următoarele **efecte farmacodinamice:**

- inhibă oncogeneza;
- creşte generarea de limfocite T citotoxice;

Scanned with OKEN Scanner

- stimulează producţia de IL-1;
- stimulează maturarea pre-limfocitelor T şi creşte producţia de IL-2 de către limfocitele Th;
- creşte numărul receptorilor limfocitelor T imunocompetente la IL-2;
- stimulează producţia de factori stimulatori de colonii;
- stimulează activitatea citostatică şi citotoxică a macrofagelor;
- creşte reactivitatea macrofagelor la unul sau mai mulţi factori activatori ai macrofagelor (MAF), generaţi de limfocitele T activate;
- activează calea alternă a complementului seric, crescând nivelurile fracţiei C3b;
- stimulează generarea celulelor LAK;
- creşte activarea celulelor NK;
- scade nivelul plasmatic al TNFα (cu 89 %) şi al IL-1β (cu 25 %) la animale de laborator stimulate cu LPS;
- induce sinteza "proteinelor de fază acută" , tip întârziat (DT-APR);
- creşte rezistenţa la infecţiile virale, bacteriene şi parazitare.

Legarea Lentinan la monocitele umane poate iniţia influenţa acestui compus asupra sistemului imunitar şi prezintă diferenţe individuale. Situsul legării sale poate fi similar cu receptorii C_{3b} de pe monocite.

Lentinan are următoarele **indicaţii**:

- terapia antitumorală: sarcom 180, carcinoame (în special, cele gastrice recurente şi colorectale), metastaze tumorale,
- adjuvant în tratamentul infecţiilor: bacteriene (*Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria, E.coli, S.aureus, P.aeruginosa),* virale (Adenovirus 12, VSV), parazitare (*Schisostoma mansoni* şi *S.japonica).*

Lentinan prezintă şi efecte anti-SIDA, prin reglarea descendentă ("down-regulation") a producţiei de TNF (TNF activează ARNm al HIV).

Se administrează pe cale intravenoasă.

Efecte adverse: poate produce vasodilataţie şi accidente hemoragice, în fazele de început ale administrării. Se sugerează ipoteza că Lentinan intervine în controlul genetic al sindromului cu vasodilataţie şi accidente hemoragice (VDH), precum şi al sindromului DT-APR.

• ***CURDLAN SULFATAT (CRDS)***

Este un 1-3-β-D-glucan, obţinut din *Alcaligenes faecalis,* varietatea *myxogenes,* sulfatat [160].

Prezintă următoarele **efecte farmacodinamice**:

- scade nivelul plasmatic al TNFα (cu 89 %) şi al IL-1β (cu 25 %);

Scanned with OKEN Scanner

- creşte rezistenţa nespecifică faţă de infecţiile cu *E.coli, S.aureus, P.aeruginosa.*

Indicaţii:

- adjuvant în tratamentul infecţiilor cu HIV, în infecţiile cu *E.coli, S.aureus, P.aeruginosa;*
- adjuvant în tratamentul hepatitelor cronice, malarie, şocul endotoxinic;
- imunodeficienţe;
- boli inflamatorii articulare;
- pentru profilaxia rejetului allografei.

• ***KRESTIN*** prezintă următoarele **efecte** farmacodinamice [30, 148]:

- inhibă oncogeneza;
- suprimă funcţia exacerbată a limfocitelor Ts, în timpul dezvoltării tumorale;
- creşte producţia de IFN şi de IL-2;
- restabileşte activitatea normală a limfocitelor T, în organismele imunodeprimate.

Krestin este **eficient** în următoarele tumori:

- sarcomul 180;
- sarcomul EL4;
- sarcomul P815;
- sarcomul L5178Y;
- hepatomul AH-13 la şobolan.

Se administrează pe cale orală.

• ***SCHIZOPHYLLAN (SPG)*** este un beta(1-3)glucan, cu o greutate moleculară de 450000. SPG are următoarele **efecte** [30, 148]:

- inhibă oncogeneza;
- stimulează activitatea fagocitară, citostatică şi citotoxică a macrofagelor;
- stimulează prodecţia de IL-1, IL-2, factori stimulatori de colonii;
- activează calea alternă a complementului seric, crescând nivelurile serice ale fracţiei C3b;
- stimulează celulele NK şi generarea celulelor LAK;
- stimulează maturarea pre-limfocitelor T şi creşte numărul receptorilor limfocitelor T imunocompetente la IL-2.

Este eficient ca agent chimioterapic antitumoral şi se administrează pe cale intravenoasă.

Scanned with OKEN Scanner

• ***PUP***, produs şi utilizat pe teritoriul Chinei, are la bază polizaharide extrase din *Polyporus umbellatus* [148].

Prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează fracţia C3 a complementului seric;
- stimulează producţia unor citokine: IL-2, IFNα şi IFNγ;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T;
- creşte rezistenţa la infecţiile virale, în special.

PUP are următoarele **indicaţii**:

- hepatita B;
- infectii cu virusul HIV tip B (HBV);
- hepatoame.

În hepatita B, PUP se asociază cu vaccinul corespunzător.

Tratamentul cu PUP se face pe cale intramusculară, timp de 9 luni.

h) Produse imunomodulatoare din plante

• ***ARTEMISININ (ARTEMISINE® ŞI ARTHEMETER®)*** au în structură lactone şi sunt extrase din specii de Artemisia (Quinghaosu), China. Asupra sistemului imunitar prezintă următoarele **efecte** [148]:

- activează complementul seric;
- creşte nivelul seric al fracţiunii C3 a complementului seric;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor T şi creşte producţia lor de citokine.

Ambele produse sunt folosite pentru tratamentul malariei rezistente la Clorochina şi al "malariei cerebrale".

• ***SAIBOKU-TO (Chai-Pu-Tang)*** este un amestec de plante medicinale din Japonia [148]. Conţine 10 principii active, iar pentru 6 din ele s-au demonstrat acţiuni antiinflamatoare sau antialergice.

Medicamentul (TJ-96) conţine un amestec de 10 extracte uscate, corespunzând celor 10 principii active obţinute din planta respectivă, într-o proporţie bine definită.

TJ-96 prezintă următoarele **efecte**:

- scade procentul de mastocite, bazofile şi eozinofile la nivel pulmonar;
- creşte numărul de neutrofile şi limfocite în sângele periferic;
- stimulează proliferarea şi activarea neutrofilelor şi a macrofagelor;
- stimulează producţia unor citokine: TNFalfa, IL-4, IL-5 şi IL-6.

TJ-96 este administrat pe cale orală. Durata tratamentului este de 14 zile.

Scanned with OKEN Scanner

Medicamentul s-a dovedit eficient în tratamentul astmului bronşic cu evoluţie îndelungată, precum şi a celui corticodependent.

• ***KOREAN mistletoe*** (K.M.-110) este un extract din *Viscum album coloratum* subspecia coreană, cu efecte profilactice faţă de metastazarea carcinoamelor de colon (26-M3.1), a melanoamelor (B16-BL6) şi a limfoamelor (L 5178 Y-ML 25) [243].

Studiile experimentale s-au realizat pe şoareci, prin administrare intravenoasă de KM-110 (în doză de 100 μg/şoarece), cu două zile înainte de inocularea tumorii. Efectul profilactic a fost evidenţiat şi prin administrarea de KM-110 pe cale subcutanată, orală sau intranazală. Intensitatea efectului a fost dependentă de doză. Efectul antitumoral al compusului KM-110 a fost însă obţinut şi la doza de 2 μg, administrate sistemic (i.v. sau s.c.).

Efectele antitumorale ale KM-110 sunt realizate prin activarea celulelor NK, a celulelor K activate de limfokine (LAK) şi a macrofagelor. Activarea celulelor NK, LAK şi a macrofagelor produce o inhibare a evoluţiei tumorilor şi o blocare a dezvoltării metastazelor [Herbermann, 1984; Hanna, 1985; citaţi bibl. 243].

Din subspecia europeană de *Viscum album* au fost izolaţi următorii factori cu efecte antitumorale: lectină [Franz, 1986; citat bibl. 243], vîscotoxine [Evans şi colab., 1973; citaţi bibl. 243] alcaloizi [Trautner, 1952, citat bibl. 243].

Subspecia *Korean mistletoe* este diferită de subspecia de *Viscum album* din Europa printr-un efect citotoxic antitumoral mai puternic, datorită unui conţinut crescut în alcaloizi citotoxici în cazul primei specii.

O semnificaţie deosebită prezintă administrarea pe cale orală sau intranazală a extractului KM-10, efectele obţinute explicându-se prin conceptul *sistemului imun comun al mucoaselor (CMIS)*. Astfel, stimularea antigenică a unei singure categorii de ţesut limfoid asociat unei mucoase (MALT), induce o activare potenţială a imunităţii tuturor mucoaselor faţă de agresiunea antigenică [Mc Ghee şi colab., 1992; citaţi bibl. 243].

• ***Ren-shen-yang-rong-tang*** este o plantă medicinală originară din China (numele japonez - Ninjin - youei-to, NYT) [269]. A fost folosită în medicina tradiţională chineză pentru tratamentul anorexiei, anemiei aplastice, tratamentului sindromului mielodisplastic şi al hipovascularizaţiei periferice.

Scanned with OKEN Scanner

Pretratamentul cu NYT activează limfocitele B [Kumazawa Y. şi colab., 1986; citaţi bibl. 269], stimulează factorii splenici şi medulari, formatori de colonii de celule eritroide (CFU-E), granulocite-macrofage (CFU-GM), la organisme (şoareci) expuse experimental iradierii (în doză letală) şi după transplante medulare la şoareci BALB/c [Miura şi colab., 1989; citaţi bibl. 269].

După tratamentul *in vitro* al celulelor mononucleare din sângele periferic cu NYT, se constată o creştere a producţiei de GM-CSF şi de IL-6 [Okamura S. şi colab., 1991; Harada N. şi colab., 1992; citaţi bibl. 269]. Se sugerează ipoteza că efectul asupra celulelor stem medulare este indirect, pe calea citokinelor eliberate de celulele endoteliale, macrofagele tisulare, fibroblaste şi adipocite [Greenberger J.S., 1991; citat bibl. 269].

De asemenea, datele experimentale obţinute *in vitro* şi *in vivo* arată că pretratamentul cu NYT determină o creştere a numărului de eritrocite, leucocite şi trombocite după iradierea cu o doză letală.

Se sugerează că NYT poate stimula producţia de eritropoetină şi, astfel, inhibă efectele inhibitorii ale IL-1, TNFα şi IFNγ (induse prin iradiere) asupra eritropoezei [Furmanski P. şi Johnson C.S., 1990; Means R.T. şi Krantz S.B., 1991; Woloschak G.E. şi colab., 1990; Ishihara H. şi colab., 1993; Hallahan D.E. şi colab., 1989; Furmanski P. şi Johnson C.S., 1990; Gasparetto C. şi colab., 1989; Nawroth P.P. şi colab., 1986; citaţi bibl. 269].

• ***Sho-Seiryu-To (SST)*** este un amestec de plante medicinale din Japonia [245].

Produsul utilizat experimental (SST) a fost obţinut dintr-un amestec de tulpini, frunze şi fructe proaspete din *Sho-Seiryu-To* plus rădăcină de *Pinellia ternata* plus frunze de *Ephedra sinica* plus fructe de *Schizandra chinensis* plus scoarţă de *Cinnamomum casia*, rădăcină de *Paeonia lactiflora*, frunze de *Asiasarum heterotropoides* (varietatea mandshuricum), rădăcină de *Glycyrrhiza uralensis* şi de *Zingiber officinale*.

Administrată la şoareci BALB/c, pe cale orală, în doză de 2 g/kgc, 7 zile înainte plus 4 zile după infecţia experimentală cu virusul *Influenza A*, SST a produs o creştere semnificativă a IgA la nivelul mucoasei nazale şi la nivel bronhoalveolar.

Administrată pe cale orală, în doză de 2 g/kgc, 7 zile înainte plus 13 zile după vaccinarea anti-*Influenza A* la şoarecii infectaţi experimental, SST a produs o creştere a nivelului seric al anticorpilor anti-hemaglutinină.

Scanned with OKEN Scanner

SST nu influenţează însă producţia de IFN. Nu are un efect virucidal direct.

Aceste date sugerează că SST poate fi folosit ca adjuvant în tratamentul infecţiilor cu virusul *Influenza A* şi în profilaxia acestor infecţii.

• ***F 36*** este o flavonă izolată din rădăcina unor plante medicinale, *Scutellaria baicalensis*, cu efecte inhibitorii faţă de sialidaza virusului *Influenza A* [245].

• ***RGAE*** este un extract din rădăcină de *Rehmannia glutinosa,* varietatea *purpureea Makino (*Coreea) [106].

Prezintă următoarele **efecte farmacodinamice**:

- inhibă eliberarea histaminei de către mastocitele peritoneale, scăzând nivelul plasmatic al histaminei;
- dependent de doză, inhibă reacţiile alergice cutanate, mediate de IgE;
- inhibă producţia de TNFα a mastocitelor peritoneale, indusă de IgE.

Datele experimentale obţinute sugerează posibilitatea utilizării RGAE în afecţiunile alergice.

• ***TYLOGENIN*** este un aglicon steroidian obţinut prin hidroliză acidă din doi glicozizi conţinuţi în *Tylophora sylvatica* (plantă medicinală africană): tylophorosid şi acetil-tylophorosid [82].

Inhibă eliberarea indusă de IgE a mediatorilor din bazofile, implicaţi în reacţiile alergice: Histamina, PAF, leucotriene şi prostaglandine [Marone G., 1985; citat bibl. 82].

Planta a fost utilizată în regiunea Coastei de Azur pentru tratamentul astmului bronşic şi al altor afecşiuni alergice. Formula tradiţională de condiţionare a constat într-o pastă medicamentoasă obţinută din frunzele plantei, care, în amestec cu suc de lămâie, se administra pe cale orală. Speciile de Ty*lophora* au fost utilizate timp de secole în medicina tradiţională a mai multor civilizaţii. În medicina populară din India, *T.asthmatica* şi *T.indica* sunt utilizate pentru tratamentul astmului şi constituie surse pentru obţinerea alcaloizilor isochinolinici, tylophorin şi tylophorinin [Ratnagiriswaran A.N. şi Venkatachalam K., 1935; citaţi bibl. 82]. Mult mai recent, s-a constatat că aceşti alcaloizi posedă pe lângă proprietăţile antiastmatice şi proprietăţi antiinflamatorii [Gopalakrishnan C. şi colab., 1980; citaţi bibl. 82]. Un alcaloid încă nedenumit a fost de asemenea extras din *T.sylvatica* [Burkill H.M., 1985; citat bibl. 82].

Scanned with OKEN Scanner

După izolarea glicozizilor steroidieni activi (tylophorosid şi acetil-tylophorosid), s-a realizat hidroliza lor acidă, obţinându-se o genină mai activă, numită Tylogenin [Gnabre J.N. şi colab., 1991; citat bibl. 82].

Tylogenin prezintă o structură chimică cu o componentă (genina) asemănătoare hormonilor steroidieni [Devon T.K. şi Scott A.I., 1972; Gnabre J.N. şi colab., 1991; citaţi bibl. 82]. Datorită acestei componente, Tylogenin prezintă efecte antiinflamatorii asemănătoare cu ale glucocorticosteroizilor.

Acest compus inhibă, dependent de doză, eliberarea mediată de IgE a Serotoninei şi a Histaminei din bazofile. Aceste efecte sunt comparabile cu cele produse de Ketotifen şi Cromolyn sodic.

Tylogenin poate fi inclus în grupa compuşilor antiinflamatori, ca substanţă "steroid-like" sau "steroid biodegradat".

• ***SINOMENINE*** este un alcaloid pur extras dintr-o plantă originară din China, *Sinomenium acutum* [147].

Din punct de vedere chimic Sinomenine este un derivat de 7,8-didehidro-4-hidroxi-3,7-dimetoxi-17-metilmorfinan-6-onă.

Prezintă efecte antiinflamatorii [Irino S., 1958; Chang S.S. şi colab., 1964; Huo H.R. şi Che X.P., 1989; citaţi bibl. 147], prin inhibarea producţiei de PGE2 şi LyTC4 de către macrofage. De asemenea, inhibă semnificativ producţia de NO de către macrofage [Liu L., Riese J., Resch, Kaever V., 1994; citaţi bibl. 147].

Experimental, după un tratament cu Sinomenine, în doză de 50-150 mg/kgc/zi, pe cale intraperitoneală, timp de 5 zile, la animale de laborator, s-a produs o diminuare a reacţiilor de hipersensibilitate întârziată [Wang J. şi Xiao P., 1992; citaţi bibl. 147]. De asemenea, Sinomenine inhibă proliferarea LPS- sau ConA - indusă a celulelor splenice. Inhibă semnificativ proliferarea mitogen-indusă a limfocitelor din sângele periferic şi fazele precoce ale activării limfocitelor T [Liu L. şi colab., 1994; citaţi bibl. 147].

Sinomenine este lipsist de citotoxicitate. Efectele sale imunoinhibitorii sunt reversibile.

Inhibarea proliferării limfocitelor se realizează prin blocarea sintezei de limfokine care induc acest proces.

Scanned with OKEN Scanner

• ***ACEMANNAN*** (ACM) este un complex carbohidrat, derivat polimanozic obţinut din *Aloe vera* [Eberendu A. şi colab., 1988; citaţi bibl 121], care prezintă următoarele **efecte farmacodinamice [121, 237]:**

- induce sinteza de NO de către macrofage;
- produce "up-regulation" (reglarea ascendentă a) capacităţii de fagocitoză a macrofagelor peritoneale şi a activităţii lor candidicidale (acţiune "cidă" faţă de *Candida albicans*) [237];
- produce "up-regulation" (reglarea ascendentă a) respiraţiei celulare, prin iniţierea producţiei de radicali liberi de oxigen de către macrofage [237]
- stimulează producţia de IL-1 şi TNFα de către macrofage [Peng S.Y. şi colab., 1991, citaţi bibl. 121; Marshal G.D. şi colab., 1993; Tizzard I. şi Kemp M., 1994; citaţi bibl. 237];
- prezintă efecte antivirale (proprietăţi de adjuvant în vaccinul împotriva virusului herpetic şi vaccinul faţă de virusul bolii Newcastle) şi antitumorale [Kahlon J.B. şi colab., 1991; Peng S.Y. şi colab., 1991, citaţi bibl. 121];
- stimulează eliberarea de citokine de către monocite, care mediază stimularea limfocitelor T [Womble D. şi Helderman J.H., 1998, citaţi bibl. 121].

Sinteza de NO este mediată prin receptorii pentru manoză ai macrofagelor. NO prezintă roluri biologice importante, incluzând reglarea rezistenţei vasculare şi a presiunii sângelui, precum şi rolul de mesager primar în transmiterea semnalului biologic la diferite celule [Palmer R.J.M. şi colab., 1987; Ross C.A. şi colab., 1990; Stuehr D.J. şi Marletta M.A., 1985; citaţi bibl. 121]. În plus, NO acţionează ca un agent citotoxic şi citostatic în distrugerea celulelor tumorale şi a paraziţilor intracelulari [Granger D.L. şi colab., 1988; Draiper J.C. şi Hibbs J.B. Jr., 1988; Karupiah G. şi colab., 1993; citaţi bibl. 121]. Datele referitoare la implicaţiile fiziologice şi fiziopatologice ale NO sunt detaliate în capitolul III.4.

Con A leagă Acemannanul şi blochează interacţiunea acestuia din urmă cu receptorii pentru manoză prezenţi la suprafaţa macrofagelor [Rossi G. şi Himmelhock L.K.S., 1983; Stahl P.D., 1992, citaţi bibl. 121].

Acemannan reduce inhibarea celulelor splenice de către reovirus la păsări [Sharma J. şi colab., 1993, citaţi bibl. 121]. De asemenea, creşte rata de supravieţuire la pisici infectate cu virusul leucemiei felinelor [Sheets M.A. şi colab., 1991; citaţi bibl. 121] sau cu virusul imunodeficienţei la feline [Yates K.M. şi colab., 1992, citaţi bibl. 121]. În plus, Acemannan a exercitat efecte antitumorale (probabil mediate prin mecanisme imunologice) în unele neoplasme spontane la pisici şi câini [Harris C. şi

Scanned with OKEN Scanner

colab., 1991; citaţi bibl. 121]. Astfel, Acemannan a fost utilizat cu rezultate încurajatoare pentru tratamentul sarcoamelor la câini [Rodriguez-Bigas M. şi colab., 1988, citaţi bibl. 237].

De asemenea, trebuie remarcat faptul că receptorii macrofagelor implicaţi primar în fagocitoza *Candidei albicans* opsonizate recunosc drept ligant fracţiile complementului seric. Nu se poate preciza însă dacă acest proces va favoriza, ulterior, înglobarea particulei *non-self* în interiorul fagocitului, prin intermediul altor receptori, cum ar fi, de exemplu, receptorii pentru manoză ai macrofagelor [Stahl P.D., 1992, citat bibl. 237]. Efectele candidicidale ale macrofagelor sub acţiunea ACM-ului sunt dependente de timpul de expunere. Dacă macrofagele sunt expuse la ACM timp de o oră, distrugerea *Candidei* este de 100%; după o expunere de 10 minute, efectul candidicidal este de circa 30%. Aceste efecte sunt dependente şi de doza administrată.

Datele din literatură demonstrează, de asemenea, că ACM stimulează respiraţia macrofagelor peritoneale şi creşte capacitatea lor fagocitară şi bactericidă faţă de bacterii patogene, de tipul *Escherichia coli* [237]. S-a sugerat că respiraţia celulară este în mod obişnuit corelată cu fagocitoza [Greenberg S. şi Silverstein S.C., 1993, citaţi bibl. 237]. Macrofagele expuse la ACM prezintă o respiraţie celulară intensificată. Aceste date sugerează, astfel, că ACM iniţiază producţia de specii reactive de oxigen, în mod similar cu acest efect obţinut sub acţiunea serum-albuminei manozilate de bovine [Gelderman M.P. şi colab., 1997; citaţi bibl. 237].

• ***FU-LING*** este un extract din *Poria cocos* (China) [115]. Dependent de doză creşte secreţia de Il-1β, IL-6 şi TNFα, dar scade secreţia unui mediator imunosupresor, TGF-β.

• ***KUM-HWANG-SAN (KHS),*** sub formă de extract apos, în aplicare topică sau intradermică, inhibă eliberarea Histaminei din mastocitele peritoneale, inhibă anafilaxia cutanată pasivă şi secreţia de TNFα de către mastocite *in vivo* şi *in vitro*. Efectele sunt dependente de doză (1-200 µg/doză parţială) [242].

Scanned with OKEN Scanner

i) Imunomodulatori cu greutate moleculară mică, produşi de microorganisme au fost obţinuţi de un grup de cercetători japonezi, Masaaki Ishizuka, Masaji Kawatsu, Takashi Yamashita, Mitsuhiro Ueno şi Tomio Takeuchi şi caracterizaţi din punct de vedere structural şi ale efectelor lor biologice în 1994 [citaţi bibl. 148].

Sunt reprezentaţi de inductori de citokine şi de antagonişti ai matricei extracelulare.

i.1. Inductorii de citokine

• ***CYTOGENIN***, produs de specii de *Streptoverticillium eurocidicum*, MI43-37F11, este un inductor de monokine şi are o acţiune antitumorală faţă de tumorile allogenice şi singeneice murine. Cytogenin este un compus isocumarinic.

Prezintă următoarele **efecte biologice**:

- stimulează macrofagele şi creşte producţia lor de citokine;
- activează limfocitele T, stimulând producţia lor de IL-2 şi IL-3;
- elimină un factor supresor care apare în timpul creşterii tumorilor şi inhibă mitogenezele induse de Concanavalina A;
- este adjuvant în suprimarea artritelor colagen-induse şi pristane-induse la şoareci, dar nu are efect pe edemul indus de carageenan.

Efectul Cytogenin-ului pe artritele experimentale este datorat modulării exercitate asupra funcţiei macrofagelor.

• ***CYTOBLASTIN*** este produs tot de *S. eurocidicum* MI43-37F11 şi are următoarele **efecte biologice**:

- activează macrofagele şi stimulează producţia lor de citokine;
- stimulează proliferarea limfocitelor T şi producţia lor de citokine.

Structura Cytoblastin-ului este asemănătoare cu cea a teleocidinelor şi a Indolactamului V, care sunt cunoscuţi ca promotori tumorali şi agenţi proinflamatori.

Activităţile Cytoblastinului ca promotor tumoral şi ca agent proinflamator sunt legate de translocaţia proteinkinazei C.

La doze mici, Cytoblastin-ul nu mai prezintă acţiune proinflamatoare şi promovează proliferarea limfocitelor T.

Cytoblastin are o toxicitate foarte scăzută şi prezintă proprietăţi biologice diferite de cele ale teleocidinelor şi ale Indolactanului V.

Scanned with OKEN Scanner

• ***CONAGENIN (CNG)*** este produs de *Streptomyces roseosporus* şi acţionează în primul rând ca inductor al producţiei de citokine de către limfocitele T.

CNG are următoarele **efecte biologice**:

- stimulează proliferarea şi producţia de citokine de către limfocitele T activate de Con A;
- creşte producţia de IL-2, IL-3 şi IL-6;
- stimulează activitatea limfocitelor Tc activate;
- stimulează măduva hematopoietică şi creşte numărul plachetelor în sângele peiferic.

Efectul CNG asupra producţiei de magacariocite este dependent de prezenţa celulelor Thy-1^+ în măduva osoasă, precum şi de o producţie normală de factori stimulatori de colonii şi de IL-6.

Se consideră că efectul CNG pe hematopoieză, în special asupra producţiei de plachete, poate fi eficient în reducerea toxicităţii agenţilor citotoxici folosiţi în terapia tumorilor.

i.2. Antagoniştii matricei extracelulare

Este cunoscut faptul că adeziunea limfocitelor şi a celulelor extracelulare pe matricea extracelulară (ECM), de exemplu pe laminină, fibronectină, colagen tip IV şi hialuronat, joacă un rol important în răspunsurile imune, inflamaţie, metastazarea şi invazia tumorilor.

Antagoniştii matricei extracelulare reprezintă o nouă clasă de imunomodulatori, cu greutate moleculară mică, ce acţionează ca inhibitori ai adeziunii celulelor la componentele ECM.

• ***DELAMINOMICINELE (DLM)*** au fost obţinute din culturi de *Streptomyces albulus* MY202-72F3. Se cunosc trei Delaminomicine, notate A, B şi C.

Ele inhibă adeziunea celulelor de melanom B16 şi a celulelor de timom EL4 activate de Con A pe laminină, fibronectină şi colagen tip IV. DLM acţionează ca agenţi imunosupresori, fiind eficiente în tratamentul artritelor induse experimental la şobolani.

• ***IC-101*** a fost obţinut din culturi de *Streptomyces* MJ202-72F3. Date experimentale arată că IC-101 inhibă adeziunea celulelor EL4 activate de Con A la fibronectină şi laminină şi adezinea celulelor de melanom B16 la fibronectină, laminină şi colagen tip IV.

Scanned with OKEN Scanner

Imunomodulatorii cu greutate moleculară mică produşi de microorganisme se află încă în stadiul experimental, dar reprezintă o posibilitate terapeutică viitoare eficientă în cancere, precum şi în unele afecţiuni imunologice, cum ar fi artritele reumatoide.

j) Imunomodulatori de sinteză

Imunomodulatorii de sinteză prezintă următoarele **avantaje** faţă de imunomodulatorii bacterieni:

- au o structură chimică bine definită, care poate fi uşor modificată pentru obţinerea unor derivaţi cu efectul imunomodulator dorit;
- au o greutate moleculară mică;
- sunt uşor de sintetizat;
- nu prezintă efectele adverse ale imunomodulatorilor bacterieni.

Din uriaşul număr de substanţe de sinteză realizat până în prezent, numărul celor studiate în vederea selectării de imunostimulatori/imunomodulatori este cu totul neînsemnat.

• ***LEVAMISOL (Decaris®)*** este un izomer levo al tetramisolului. Acţiunile Levamisolului la nivelul sistemului imunitar au fost observate întâmplător [Renoux, 1971; citat bibl. 148], după ce fusese introdus în terapie ca antihelmintic (1966).

Levamisolul prezintă următoarele **efecte de tip imunomodulator** [79, 148, 277, 279]:

- favorizează diferenţierea şi maturarea limfocitelor T;
- normalizează funcţiile reglatoare ale limfocitelor T;
- stimulează proliferarea limfocitelor Ts;
- reface activitatea fagocitară a macrofagelor şi granulocitelor;
- creşte nivelul complexelor imune circulante.

Levamisol este hepatoprotector şi captator de radicali liberi de oxigen, în acest sens, efectele sale fiind similare cu cele ale vitaminei E. Inhibă peroxidarea lipidică.

Ca imunomodulator, Levamisolul prezintă următoarele **indicaţii** [6, 122,123, 234, 241]:

1) Poliartrita reumatoidă, unde determină: refacerea răspunsului imun mediat celular, creşterea chemotactismului şi a capacităţii de fagocitoză a macrofagelor şi a PMN şi stimularea funcţiilor limfocitelor T. El reduce modificările inflamatorii simultan cu scăderea titrului factorului reumatoid şi a VSH-ului.

Scanned with OKEN Scanner

Eficienţa Levamisolului în poliartrita reumatoidă s-ar datora stimulării procesului de oxidare a unei molecule precursoare sanguine, care se transformă, astfel, într-o substanţă imunosupresoare notată SIRS ("soluble immune respone suppressor substance"). De asemenea, Levamisolul produce şi o inhibare a acumulării acidului hialuronic în articulaţiile inflamate [10, 200, 201].

Doza este de 40-50 mg/zi, pe cale orală, în prima săptămână. Apoi se creşte doza la 80-100 mg/zi în săptămâna a doua, urmată de o nouă creştere a dozei, până la 120-150 mg/zi, zilnic, 1-3 luni. Administrarea unei doze de 150 mg/zi, timp de 3 zile consecutiv, în fiecare săptămână sau la 2 săptămâni, este la fel de eficientă ca şi administrarea zilnică prezentată anterior. Ca şi în cazul compuşilor cu aur şi al Penicillaminei, şi în tratamentul cu Levamisol există o perioadă de latenţă de 3-4 luni, până la observarea unei ameliorări clinice.

2) Hepatita cronică B, unde se asociază Levamisolul cu IFNalfa recombinat [28].

3) Hepatite cronice autoimune [62].

4) Hepatite toxice [62].

5) Hepatite induse de consumul cronic de alcool etilic [Varga şi Burris, 1989, citaţi bibl. 62].

6) Ciroze biliare [62].

7) Pancreatita cronică, ca adjuvant [85].

8) Inflamaţiile ginecologice cronice recurente, ca adjuvant.

9) TBC pulmonară cronică, ca adjuvant.

10) Glomerulonefrite şi sindrom nefrotic rezistent la terapia cu corticoizi, unde Levamisolul poate fi folosit, alături de BCG, determinând o scădere semnificativă a proteinuriei [263].

11) Veruci, ca adjuvant [6].

12) Arsuri şi leziuni eroziv-ulcerative ale tractului gastro-intestinal, unde Levamisolul este folosit împreună cu agenţi antioxidanţi, alături de oxigenarea hiperbară. Determină o refacere rapidă a statusului imunologic şi previne suprainfecţiile.

13) Oligospermii, unde Levamisolul creşte numărul spermatozoizilor, stimulează motilitatea acestora, scade nivelul de IgG din lichidul seminal.

14) Boala Hodgkin, unde determină o creştere a numărului de limfocite T sanguine.

15) Cancerul colo-rectal, unde Levamisolul este folosit ca adjuvant, potenţând efectul 5-Fluorouracilului [122, 123].

16) Cancerul gastro-intestinal avansat, unde Levamisolul este folosit ca adjuvant alături de radioterapie şi 5-Fluorouracil [167].

Scanned with OKEN Scanner

17) Coriocarcinom şi mola veziculară, ca adjuvant.
18) Cancerul de sân avansat, ca adjuvant al chimioterapiei [126].
19) Cancerul pulmonar, ca adjuvant [64].
20) Melanomul malign, ca adjuvant [229].
21) Cancerul renal operat, ca adjuvant.
22) Schizofrenia, unde au fost obţinute ameliorări ale stării clinice prin creşterea nivelului limfocitelor Ts. În schimb, după administrarea Levamisolului se constată şi o creştere a nivelurilor complexelor imune circulante. Acest aspect este dezavantajos, dacă se ia în considerare teoria autoimună în schizofrenie.

Levamisolul este util mai ales în cazurile de rezistenţă la tratamentul cu neuroleptice.

Efectele adverse ale Levamisolului apar la 20% dintre pacienţii trataţi şi sunt reprezentate de următoarele:
- rash;
- ulcere ale mucoasei bucale;
- leucopenie, agranulocitoză, trombocitopenie;
- boala influenza-like;
- tulburări de gust;
- greţuri, vărsături;
- glomerulonefrite de tip imun, reversibile;
- cefalee, ameţeli, somnolenţă sau excitaţie;
- hipotensiune;
- febră.

Levamisolul este **contraindicat** în:
- boli hepatice grave;
- boli renale grave.

În timpul tratamentului cu Levamisol este necesar controlul periodic al leucogramei.

Levamisolul este condiţionat sub formă de comprimate conţinând 150 mg sau 50 mg.

• ***THIABENDAZOL (Mintezol®)*** este un produs benzimidazolic folosit iniţial doar ca medicament de elecţie pentru tratamentul strongiloidozelor şi a infestărilor determinate de *Larva migrans* cutanată [123].

Ulterior, i s-au descris **efecte de tip imunomodulator** şi anume [148]:
- favorizează diferenţierea şi maturarea limfocitelor T;

Scanned with OKEN Scanner

- stimulează funcţiile limfocitelor T cu rol reglator în cadrul răspunsului imun mediat celular;
- stimulează activitatea fagocitară a macrofagelor şi granulocitelor;
- este un agent imunorestaurator, dovedind maximum de imunopotenţare asupra gazdelor imunodeprimate;
- prezintă efecte antipiretice.

Prezintă **efecte adverse** care îi limitează utilizarea, chiar ca antihelmintic [123, 148]:
- anorexie, greţuri, vărsături, neplăcere epigastrică, diaree;
- ameţeli, cefalee, tulburări de vedere, stare de oboseală, agitaţie psihomotorie, tinitusuri;
- hipotensiune;
- pozitivarea unor teste funcţionale hepatice, leziuni hepatice, icter, colestază;
- hiperglicemie;
- cristalurie, hematurie, enurezis;
- reacţii alergice: erupţii cutanate, edem angioneurotic, limfadenopatie, febră, prurit, chiar şoc anafilactic, sindrom Stevens-Johnson.

Are următoarele **contraindicaţii**:
- sarcina, perioada de alăptare;
- prudenţă la: renali, hepatici, bătrâni, persoane debilitate fizic.

Inhibă metabolizarea teofilinei.

Thiabendazol-ul se prezintă sub formă de tablete pentru mestecat, conţinând 500 mg.

Doza standard este de 2 mg/kgc/zi (maximum 1,5 mg/zi).

• ***SM-8849*** este un derivat thiazolic cu proprietăţi antiartritice [148].

Studii experimentale pe şoareci cu artrite induse cu Pristane şi trataţi cu SM-8849, în doze de 50 mg/kgc/zi, zilnic, timp de 32 săptămâni, au arătat următoarele **efecte farmacodinamice** ale derivatului thiazolic:
- amelioararea sau vindecarea leziunilor artritice (în proprţie de 67%);
- atenuarea simptomatologiei;
- reducerea distrugerii osoase;
- scăderea nivelului seric al factorilor reumatoizi;
- scăderea nivelului seric al amiloidului P;
- inhibarea activării limfocitelor T mature splenice, care exprimă $CD44^+$ (la şoarecii cu artrită Pristane-indusă, proporţia acestor limfocite T splenice este crescută).

Scanned with OKEN Scanner

Datele experimentale au arătat că la şoarecii cu artrită Pristane-indusă sunt detectate niveluri crescute de IL-6 [Hitsumoto Y. şi colab., 1992; citat bibl. 148]. Această citokină induce producţia de amiloid P seric (SAP). Se impune ca cercetările viitoare să elucideze mecanismele efectelor inhibitorii ale SM-8849 pe producţia de IL-6 în condiţiile unei inflamaţii cronice.

• ***ISOPRINOSINA (Inosiplex®)*** (INPX) este un complex molecular format din inosină şi N,N-Dimetilamino-2-propranol p-Acetamidobenzoat (DIP-PAc BA), în proporţia 1/3 [30, 50, 81, 148, 199, 276].

Isoprinosina prezintă următoarele **efecte biologice**:

- creşte proliferarea PHA-indusă a celulelor mononucleare din sângele periferic uman;
- stimulează proliferarea PHA-indusă a pre-limfocitelor T şi a amestecului de pre-limfocite T şi pre-limfocite B;
- creşte numărul limfocitelor T cu capacitate de rozetare;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea limfocitelor Th;
- potenţează activitatea celulelor NK;
- creşte capacitatea citotoxică a celulelor NK;
- stimulează proliferarea şi capacitatea de fagocitoză a macrofagelor;
- stimulează chemotaxia eozinofilelor;
- creşte numărul receptorilor pentru complement la nivelul fagocitelor;
- stimulează proliferarea şi acţiunea citotoxică a limfocitelor Tc;
- restaurează răspunsurile imune mediate celular la organismele imunodeprimate;
- stimulează chemotaxia neutrofilelor;
- creşte producţia de IL-1 şi/sau IL-2;
- restabileşte răspunsurile proliferative ale limfocitelor T, induse cu PHA şi PWM la pacienţii cu SIDA, crescând numărul absolut al limfocitelor Th;
- creşte numărul receptorilor pentru IL-2 la nivelul limfocitelor T.

Isoprinosina are următoarele **indicaţii**:

- sindroamele SIDA şi pre-SIDA;
- hepatite virale;
- infecţii cu rinovirusuri, infecţii cu virusul influenzei;
- panencefalita sclerozantă subsacută (SSPE);
- scleroza amiotrofică laterală;
- infecţii recurente respiratorii şi la nivelul tractului urinar;
- arsuri;

Scanned with OKEN Scanner

- postoperator (după intervenţiile chirurgicale dificile, cu complicaţii postoperatorii);
- artrite reumatoide;
- lupus eritematos sistemic.

Se administrează pe cale orală. Dozele sunt variabile. Astfel, pentru pacienţii cu SSPE, sunt indicate 100 mg/kgc/zi, iar pentru pacienţii cu scleroză amiotrofică laterală sunt indicate 3-4 g/zi, în ambele cazuri tratamentul fiind continuu pe perioade de 2-14 ani.

Pederson C. şi colaboratorii, în 1990 [citaţi bibl. 81], au propus utilizarea Isoprinosinei în infecţiile HIV.

Se află în stadiul experimental o serie de compuşi cu acţiune similară: ***Nosatina*** şi ***ST-789*** [81].

• ***METILINOSIN MONOFOSFAT (MIMP)***

Prezintă următoarele **efecte biologice [81, 88, 218, 228]:**

a. "in vitro": antagonizează efectele imunosupresoare asupra răspunsului proliferativ al LyT, produse de PGE2, IFNγ şi GCS, precum şi de peptidele derivate din HIV;

b. "in vivo": antagonizează deprimarea răspunsurilor LyT, asociată cu un răspuns defectuos al IL-2, observate în cursul infecţiilor HIV, dar şi la persoanele în vârstă [Hadden J.W., 1991; citat bibl. 88].

• ***NPT 15392***, compus purinic, eritro-9(2-hidroxi,3-nonil)hipoxantina, este un derivat hipoxantinic substituit în poziţia 9, în care lanţul lateral este identic cu cel al EHNA (eritro-9-(2-hidroxi,3-nonil)adenina), un puternic inhibitor al adenin-deaminazei [30, 88, 148, 218, 228].

DL_{50}>5000 mg/kgc la şoarece şi şobolan, pe cale orală [Hadden J. W. şi colab., 1981; citaţi bibl. 148].

NPT 15392 prezintă următoarele **efecte biologice**:

- creşte proliferarea Con A- şi PHA- indusă a celulelor splenice de hamster şi de şoarece;
- restabileşte răspunsul proliferativ al limfoblaştilor, indus de Con A, la organisme imunodeprimate cu virusul leucemic Friend;
- creşte răspunsul proliferativ mitogen-indus al limfocitelor B;
- inhibă proliferarea Con A-indusă a limfocitelor Ts;
- creşte numărul celulelor splenice formatoare de plaje de hemoliză Jerne;
- stimulează maturarea pre-limfocitelor T;
- creşte numărul limfocitelor T cu capacitate de rozetare;

Scanned with OKEN Scanner

- creşte efectul citotoxic al limfocitelor Tc şi al celulelor NK;
- stimulează producţia de IL-2;
- inhibă dezvoltarea anemiei hemolitice autoimune experiemntale, la şoarecii tineri, prin scăderea nivelurilor de Ac anti-eritrocitari specifici.

Experienţa clinică pentru produsul NPT 15392 este încă limitată. S-a dovedit eficient în restabilirea răspunsului imun deprimat la bolnavii cu neoplazii.

NPT 15392 are o serie de proprietăţi similare cu acelea ale Isoprinosinei, dar efectele respective apar la concentraţii mai mici decât ale Isoprinosinei.

Se află în stadii experimentale o serie de alţi derivaţi sintetici, şi anume: compuşii cianoaziridinici (Azimexan, Ciamexan şi Imexan) şi metil-inosine-monofosfatul [81, 88, 218, 228]. Sunt investigate posibilităţile de utilizare ale acestor compuşi în tratamentul SIDA şi al neoplaziilor.

• ***ROQUINIMEX***

Exte un imunomodulator care determină creşterea numărului celulelor NK şi stimulează funcţiile limfocitelor T şi B. Este indicat pentru stimularea funcţiilor imune la pacienţi după transplant de măduvă, pentru a preveni recăderile în encefalomielitele alergice, în scleroza multiplă [123].

• ***DIETILDITIOCARBAMAT DE SODIU (Ditiocarb®, Imuthiol®, DTC)*** are acţiune timomimetică [G. Renoux; citat bibl. 81]. Produce stimularea proliferării LyT bovine, după inoculare, "in vivo", dar nu prezintă efecte "in vitro".

La persoanele cu infecţie HIV simptomatică reduce sensibilitatea faţă de infecţii, dar nu este eficient la pacienţii HIV pozitivi asimptomatici. Este indicat şi ca adjuvant în terapia artritei reumatoide [81].

• ***LOBENZARID (CCA; Disodiu-4-clor-2,2'-dibenzoat)***

Este un compus sintetic cu eficienţă demonstrată în tratamentul artritei reumatoide [Fujimoto M., Japonia; citat bibl. 81].

Prezintă următoarele **efecte farmacodinamice [30, 81]**:

- potenţează proliferarea şi diferenţierea celulelor Th;
- stimulează activarea celulelor NK;
- stimulează producţia de IFNα;
- scade producţia de IL-1 din mastocitele umane;
- creşte exprimarea receptorilor pentru fragmentul Fc al Ig (FcR) pe limfocitele umane;

Scanned with OKEN Scanner

- inhibă proliferarea LyT prin inhibarea producţiei de citokine a macrofagelor.

• ***CYANIDANOL-3*** este un flavonoid polifenolic cu efecte hepatoprotectoare demonstrate experimental, pe animale de laborator [Soni, 1991; citat bibl. 62]. Efectele pe sistemul imunitar au fost observate în cursul studiilor experimentale privind acţiunea sa antihepatotoxică [Feher şi colab., 1984; citaţi bibl.62].

Cyanidanol este un "stabilizator al membranei hepatocitului", inhibând în mod specific peroxidarea lipidică, atât *in vitro*, cât şi *in vivo* [Hennings, 1979; citat bibl. 62]. Blochează sinteza de radicali liberi de oxigen, scade influxul transmembranar de Ca^{2+}, inhibă enzimele Ca^{2+} - dependente: fosfolipaza A_2, endonucleazele şi proteazele, inhibă conversia xantin-dehidrogenazei la xantin-oxidază.

Cyanidanol îşi exercită efectele farmacodinamice prin intermediul receptorilor specifici, reprezentaţi de proteinele mitocondriale, care prezintă un rol cheie în reglarea permeabilităţii "porilor" mitocondriali. Creşte disponibilitatea de ATP (stimulează sintezele respective în faza "S" a ciclului celular şi mobilizează resursele celulare în faza "M").

Cyanidanol nu influenţează dezvoltarea sau funcţiile limfocitelor T.

Prezintă următoarele **indicaţii**:

- ciroze biliare;
- hepatite cronice autoimune;
- hepatite toxice;
- hepatite induse de consumul cronic de alcool etilic [Varga şi Burris, 1989; citaţi bibl. 62].

Efecte adverse: anemie hemolitică.

• ***LINOMIDE (LINO)*** este un derivat chinolin -3-carboxamidic [Bengtsson şi colab., 1992; Karussis şi colab., 1993; citaţi bibl. 135].

Prezintă următoarele **efecte farmacodinamice [135]:**

- stimulează activitatea celulelor NK;
- are efecte antiinflamatorii.

A fost utilizat experimental, în doză de 80 mg/kgc/zi, 30 zile, pe cale orală, la şoareci cu artrită autoimună indusă experimental, folosind *Borrelia burgdorferi (Bb)*, tulpina SH-2-82 [Dr.M. Simon, Max Planck, Freiburg, Germania; citaţi bibl. 135].

Scanned with OKEN Scanner

Datele experimentale obţinute sugerează că Linomide ar putea fi folosit ca adjuvant în tratamentul unor afecţiuni autoimune, cum ar fi artrita reumatoidă cronică.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

III. ALTE MEDICAMENTE CU ACȚIUNE PE SISTEMUL IMUNITAR

Există un număr de medicamente care nu prezintă indicații în imunoterapie, dar care influențează unele componente ale sistemului imunitar, în sensul stimulării sau al deprimării.

În cele ce urmează sunt menționate câteva dintre cele mai importante grupe de medicamente care prezintă efecte secundare asupra sistemului imunitar:

1. MEDICAMENTE CU ACȚIUNE ASUPRA SNV [50, 52, 61, 80, 148, 152, 166, 169, 212, 223, 232, 271]

Mesagerii primari ai SNV acționează pe receptori cholinergici, adrenergici şi dopaminergici. Aceşti receptori sunt localizați şi la nivelul unor componente celulare ale sistemului imunitar, şi anume:

Receptorii cholinergici:
- neutrofile;
- macrofage;
- mastocite;
- celulele endoteliului vascular;
- limfocite T.

Receptorii adrenergici:

- receptorii α-adrenergici:
- macrofage;
- celulele endoteliului vascular (α1-adrenoceptori).

- receptorii β-adrenergici:
- macrofagele;
- mastocitele (β2 adrenoceptori);
- neutrofile;
- limfocite T.

Receptorii dopaminergici:
- limfocite T.

1.1. SISTEMUL NERVOS PARASIMPATIC

Acetilcolina stimulează funcţiile celulelor imunocompetente. Transmiterea intracelulară a semnalului biologic se face prin intermediul GMPc a cărei concentraţie intracelulară creşte, în urma activării guanilat-ciclazei [148, 232].

Acetilcholina stimulează proliferarea neutrofilelor, macrofagelor şi a limfocitelor T, creşte efectul lor citotoxic şi producţia lor de citokine.

Colinomimeticele facilitează eliberarea mediatorilor din mastocitele căilor respiratorii.

Pacienţii astmatici prezintă un răspuns bronhoconstrictor crescut la agoniştii receptorilor cholinergici, ceea ce sugerează că ei au o sensibilitate cholinergică crescută. Este posibil ca mediatorii eliberaţi să crească efectele cholinergice la nivelul receptorilor muscarinici, fie prin creşterea densităţii sau afinităţii receptorilor muscarinici, fie prin creşterea eficienţei receptorilor cuplaţi.

Unii autori susţin că hiperreactivitatea căilor respiratorii la astmatici este datorată şi unui defect specific al receptorului cholinergic [P.J.Barnes, 1994; citat bibl. 148].

De altfel, o contraindicaţie majoră a Acetilcholinei şi a parasimpaticomimeticelor cu acţiune directă este reprezentată de astmul bronşic.

Administrarea experimentală de ***CARBACHOL*** (agonist al receptorilor muscarinici) produce eliberarea de Acetilcholină şi de Serotonină din celulele mucoasei vezicii urinare de şobolan. Activarea mastocitelor de la nivelul mucoaselor se poate realiza prin stimulare nervoasă diectă [Dimitriadou, Buzzi, Moskowitz şi Theoharides, 1991; citaţi bibl. 166], sau prin stimularea produsă de mediatori ai sistemului nervos: Acetilcholina [Dimitriadou, Lambracht - Hall, Reichler şi Theoharides, 1990; citaţi bibl. 166], Neurotensina [Carraway şi colab., 1982; citaţi bibl. 166] şi substanţa P [Fewtrell şi colab., 1982; citaţi bibl. 166] precum şi de stresul acut la nivelul vezicii urinare [Spanos şi colab., 1997; citaţi bibl. 166] şi la nivelul intestinului [Castaglinolo şi colab., 1996; citaţi bibl. 166].

Administrarea experimentală, pe cale orală sau transcutanată a ***Malathion-ului*** (parasimpaticomimetic cu acţiune indirectă), stimulează funcţiile macrofagelor peritoneale şi produce degranularea mastocitelor peritoneale şi eliberarea de Histamină [212].

Scanned with OKEN Scanner

Nivelul seric maxim al Histaminei este obţinut după 4 ore de la administrarea Malathionului. Administrarea acută de Malathion în doze "necolinergice" (0,1 mg/kgc-700 mg/kgc şoarece şi, respectiv, 0,1 mg/kgc-1000 mg/kgc şobolan, în cazul administrării orale sau 2-2000 mg/kgc sub forma unui bandaj ocluziv, în cazul administrării transcutanate), stimulează răspunsul imun umoral şi răspunsul proliferativ la stimulii antigenici, la animalele de laborator. Efectul asupra răspunsului proliferativ celular implică modificări în aderarea celulă-celulă.

NICOTINA produce *in vitro* o scădere a exprimării receptorilor CD8 pe limfocitele T şi o creştere a exprimării receptorilor CTLA-4 pe aceste celule [271]. Scade producţia de IL-2 şi IFNγ de către LyT_{h-1}, dar creşte în mod semnificativ producţia de IL-4 şi IL-10 de către LyT_{h-2}.

Creşterea producţiei de IL-10 sub acţiunea Nicotinei contribuie la scăderea producţiei de IL-2 şi IFN-γ şi la stimularea producţiei de IL-4.

IL-10 este considerată o citokină antiinflamatoare, deoarece ea inhibă producţia de IL-2 şi IFNγ de către celulele T CD4. În plus, IL-10 promovează proliferarea celulelor B şi factorul de diferenţiere al celulelor B. Activitatea crescută a celulelor B este un marker caracteristic al *leziunilor periodontale avansate*, iar procentajul de celule secretoare de IL-4 este semnificativ crescut în ţesutul gingival al pacienţilor cu o boală periodontală cu progresie rapidă. S-a demonstrat că ţesuturile gingivale ale adulţilor cu periodontite prezintă o concentraţie crescută de celule din seria B, niveluri plasmatice crescute ale acestor celule şi ale IgA, niveluri crescute de IL-5 şi IL-6, dar nu şi o creştere a nivelurilor de IL-2.

Se consideră că expunerea limfocitelor T la Nicotină, în timpul elaborării răspunsului imun, produce o dezvoltare mai puternică a LyT_{h-2}, faţă de LyT_{h-1}.

Proprietatea Nicotinei de a influenţa producţia de citokine a LyT CD4 a avut un impact deosebit în progresia *bolilor cu etiologie microbiană*. La subiecţii umani cu o formă de rezistenţă la lepră, se constată o expresie crescută a LyT_{h-1} şi a producţiei lor de citokine.

Rezistenţa faţă de *Listeria monocytogenes* este dependentă de IL-12 şi de producţia de IFNγ.

Progresia infecţiei HIV, atât la oameni, cât şi la şoareci, este asociată cu o scădere a producţiei de citokine de către LyT_{h-1} (cum ar fi IFNγ) şi o creştere a producţiei de citokine de către LyT_{h-2} (cum ar fi, IL-4 şi IL-10). Expunerea celulelor mononucleare la diferite concentraţii de Nicotină poate exacerba scăderea IFNγ asociată acestor afecţiuni.

Scanned with OKEN Scanner

1.2. SISTEMUL NERVOS SIMPATIC

Adrenalina scade numărul GM-CSF, întreaga hematopoieză aflându-se, de altfel, sub controlul adrenergic [152, 223]. Adrenalina stimulează sinteza LPS - indusă a IL-10 (pe o cale mediată de activarea protein-kinazei A).

1.2.1. Agoniştii receptorilor α-adrenergici pot fi benefici în tratamentul astmului bronşic prin reducerea fluxului sanguin în vasele zonei inflamate [50, 148]

1.2.2. Agoniştii receptorilor β-adrenergici inhibă activitatea celulelor NK, inhibă degranularea mastocitelor, proliferarea neutrofilelor, a macrofagelor şi a limfocitelor T şi scad producţia lor de citokină; inhibă diferenţierea limfocitelor B şi producţia lor de Ig. La pacienţii astmatici se constată o scădere a numărului de receptori β-adrenergici la nivelul căilor respiratorii [50, 148].

• ***Agoniştii neselectivi ai receptorilor β1-β2 (ISOPRENALINA) şi selectivi ai receptorilor β2 (SALMETEROL, SALBUTAMOL, FENOTEROL)*** produc, dependent de doză, efecte asupra producţiei de IL-4 şi IFNγ de către celulele mononucleare din sângele periferic [52, 61, 169]. La concentraţii scăzute, ei inhibă producţia de IL-4 şi pot acţiona ca medicaţie antiinflamatorie în tratamentul astmului bronşic infecto-alergic. Salmeterolul - cu o durată lungă de acţiune - produce o bronhodilataţie persistentă, inhibă reacţia astmatică "întârziată" şi creşte răspunsul la stimulii exogeni al căilor respiratorii. Se sugerează, astfel, că efectele antiastmatice ale Salmeterolului (şi, în general, ale β2-agoniştilor) pot fi parţial explicate şi prin alte mecanisme de acţiune decât cele care produc bronhodilataţie.

Agoniştii β2 (dar şi cei neselectivi β1-β2) produc, dependent de doză, o inhibare a proliferării limfocitelor T şi a producţiei de IL-2, precum şi a sintezei şi a exprimării receptorilor pentru IL-2 (IL-2R) pe celulele ţintă. La concentraţii crescute (10^{-4} M) Salmeterol produce o creştere a sintezei şi eliberării de IL-4 de către limfocitele T umane, în timp ce la concentraţii scăzute, nu are efect asupra acestei citokine. O explicaţie ar consta în scăderea consumului de IL-4 datorită scăderii activităţii LyT. La concentraţii foarte mari (mai mari de 10^{-4} M) de Salmeterol, se produce inhibarea producţiei de IL-4, care poate fi legată de scăderea producţiei de IFN. În sprijinul acestei ipoteze este faptul demonstrat că dezvoltarea LyT_{h-2} (producătoare de IL-4) este influenţată negativ de către IFNγ. Efectele inhibitorii ale Salmeterolului (şi, în general, ale β2 agoniştilor) asupra

Scanned with OKEN Scanner

funcţiilor limfocitelor T se pot exercita şi după activarea acestora. Acest aspect poate fi speculat în terapie la pacienţii cu astmul bronşic, după expunerea acestora la un alergen care a afectat activarea şi funcţiile limfocitelor.

Relativ recent, s-a demonstrat că, la concentraţii scăzute, agoniştii receptorilor β-adrenergici activează canalele de K^+, Ca^{2+}, dependente din celulele musculaturii netede ale căilor respiratorii şi de la nivelul limfocitelor. Pe de altă parte, într-o serie de experimente, inhibarea Salmeterol-indusă a producţiei de IL-4 şi de IFNγ de către celulele mononucleare din sângele periferic nu a fost afectată de administrarea unui blocant specific de canele de K^+, Ca^{2+}-dependente: Charibdotoxin.

Acţiunea maximă a β2-agoniştilor asupra producţiei de IL-4 şi de IFNγ se manifestă la 24 de ore de la administrarea compuşilor. Administrarea pe termen lung a β-agoniştilor poate induce tahifilaxie sau reglare descendentă a receptorilor β ("down - regulation").

Deci, agoniştii receptorilor β pot avea şi efecte antiinflamatorii (prezente în cazul administrării pe cale inhalatorie, la doze de un μM). Aceste efecte pot fi parţial mediate prin modularea raportului: citokine produse de LyT_{h-1}/citokine produse de LyT_{h-2}.

Date experimentale relativ recente demonstrează că Salmeterol, în concentraţie de 10^{-8} - 10^{-5} M, inhibă eliberarea de PAF şi de IL-5 indusă de anioni superoxizi (O_2-). Salmeterol scade eliberarea de O_2-) sub acţiunea LTB_4 şi inhibă puternic aderenţa eozinofilelor. Inhibă eliberarea de eozinofil-peroxidază (indusă fie de fracţiunea C_{5a} a complementului, fie sub acţiunea Formil-metionil-leucil-fenilalaninei). De asemenea, Salmeterol inhibă semnificativ eliberarea de β-hexoseaminidază sub acţiunea C_{5a} sau, mai ales, sub acţiunea Formil-metionil-leucil-fenilalanină. Toate aceste efecte ale Salmeterolului asupra funcţiilor eozinofilelor umane sunt mediate prin intermediul receptorilor β2-adrenergici de pe eozinofile şi nu sunt reversibile după administrarea unui antagonist al receptorilor β2-adrenergici (de tipul ICI 11 8551), într-o concentraţie de 10^{-7} [61].

1.2.3. Antagoniştii receptorilor α-1 adrenergici (de tipul ***PRAZOSIN***) cresc concentraţia granulocitelor şi a plachetelor în sângele periferic, stimulează producţia de GM-CSF şi induc o hiperplazie granulocitară a splinei. Pe de altă parte, Prazosin scade numărul limfocitelor T şi B splenice, numărul timocitelor după transplantele de măduvă osoasă, scade activitatea celulelor NK şi activitatea LyTc.

Scanned with OKEN Scanner

Antagoniştii receptorilor α1-adrenergici reduc raţia granulocite-monocite/limfocite în sângele periferic, prin scăderea numărului de limfocite T şi limfocite B din splină, precum şi prin reducerea celularităţii splenice. Proporţia relativă a subpopulaţiei din timocite nu este afectată, sugerând un mecanism în care nu este implicată axa hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenaliană.

Posibilitatea modulării limfohematopoezei de către agenţii adrenergici şi prezenţa receptorilor adrenergici pe celulele progenitoare medulare deschid noi perspective terapeutice şi de diagnostic [152].

1.2.4. Beta-blocantele, în administrare cronică, pot induce lupus eritematos sistemic, prin mecanism imunologic de tip II, cu implicarea IgG sau a IgM şi liză celulară complement-dependentă [80].

1.2.5. Neurosimpaticoliticele cu acţiune predominant centrală

• ***METILDOPA*** (ca şi, antiparkinsonianul ***LEVODOPA)*** pot induce anemie hemolitică autoimună, prin mecanism imunologic de tip II [80].

• ***6-HIDROXIDOPAMINA (6-OHDA)*** induce apoptoza timocitelor, iar Desipramina (antidepresiv) poate aboli efectele 6-OHDA [Kump şi colab., 1996; citaţi bibl. 265].

2. AUTACOIZI CU STRUCTURĂ AMINICĂ

2.1. HISTAMINA scade funcţionalitatea celulelor imunocompetente activând adenilat-ciclaza, cu creşterea intracelulară a AMPc [30, 50, 90, 148, 166].

Receptori pentru histamină se găsesc pe următoarele celule ale sistemului imunitar:

- neutrofile;
- eozinofile;
- macrofage;
- limfocite T (receptori H_2);
- limfocite B (receptori H_1).

Histamina inhibă chemotaxia neutrofilelor şi eliberarea enzimelor lizozomale din granulocite, creşte chemotaxia eozinofilelor, suprimă răspunsul proliferativ mitogen-indus al limfoblaştilor umani şi al limfoblaştilor de cobai. Histamina inhibă proliferarea mitogen-indusă a limfocitelor T citotoxice [Beer şi Rocklin, 1984; Bartholyns şi Fozard, 1985; citaţi bibl. 90], produce reglarea descendentă a eliberării IL-2 de către

Scanned with OKEN Scanner

limfocitele T citotoxice [Gifford şi colab., 1998; citaţi bibl. 90] şi inhibă activarea limfocitelor T supresoare [Rocklin şi colab., 1980; citaţi bibl. 90]. De asemenea, Histamina stimulează proliferarea celulară în procesele carcinogenice gastrice [Bartholyns şi Bouclier, 1984; Kikuchi şi colab., 1985; citaţi bibl. 90]. Aceste efecte sunt mediate prin intermediul receptorilor histaminergici H_2 situaţi la nivelul celulelor tumorale gastrice, iar transmiterea semnalului biologic postreceptor în acest caz se realizează prin creşterea activităţii kinazelor AMPc dependente.

Mastocitele de la nivelul mucoaselor, după activare (prin stimulare nervoasă directă, sub acţiunea mediatorilor sistemului nervos sau în condiţii de stres acut), eliberează numeroase molecule biologic active: citokine, kinine, histamină, leucotriene, prostaglandine, proteaze [Galli, 1993; citat bibl. 166], din care cel puţin histamina stimulează neuronii periferici [Christian, Undem şi Weinreich şi colab. 1989; citaţi bibl. 166]. Mastocitele de la nivelul vezicii urinare sunt activate în cursul *cistitelor interstiţiale* [Theoharides, Pang, Letourneau şi Sant, 1998; Theoharides, 1994; citaţi bibl. 166], constatându-se acest fenomen atât prin examenul ultrastructural [Theoharides şi colab., 1995; citaţi bibl. 166], cât şi prin determinarea unor niveluri crescute în urină ale mediatorilor eliberaţi de mastocite [Boucher, El-Mansoury, Pang, Sant, Theoharides, 1995; El-Mansoury, Boucher, Sant, Theoharides, 1994; Holm-Bentzen, Sondergaard şi Hald, 1987; citaţi bibl. 166]. Cistita interstiţială este un sindrom algic cu etiologie necunoscută, care se manifestă aproape în exclusivitate la femei [Fall, Johansson şi Aldenborg, 1987; citaţi bibl. 166]. Peste 50 % dintre pacienţii cu cistită interstiţială prezintă şi alergii şi peste o treime dintre aceşti pacienţi prezintă şi sindromul colonului iritabil, conducând, astfel, la definirea unei condiţii fiziopatologice sistemice care se manifestă primar prin cistită interstiţială [Koziol, Clark, Gittes şi Tan, 1993; Theoharides şi colab., 1998; citaţi bibl. 166]. În urina pacienţilor cu cistită interstiţială se constată niveluri crescute de metilhistamină [El-Mansoury şi colab., 1994; Holm-Bentzen şi colab., 1987; citaţi bibl. 166] şi de triptază [Boucher şi colab., 1995; citaţi bibl. 166], deşi Histamina este secretată de către mastocitele mucoasei vezicii urinare numai în timpul hiperdistensiei la aceşti pacienţi [Yun şi colab., 1992; citaţi bibl. 166].

2.1.1. Agoniştii receptorilor histaminergici H_1 inhibă proliferarea mitogen-indusă a limfocitelor B.

Scanned with OKEN Scanner

2.1.2. Antihistaminicele anti-H1

• ***HYDROXYZINE*** este un derivat piperazinic, antagonist al receptorilor H1rα, care prezintă în plus efecte anticholinergice, anxiolitice şi analgezice [166]. S-a demonstrat experimental că acest compus inhibă eliberarea Carbachol-indusă a Serotoninei din celulele mucoasei vezicii urinare la şobolani, printr-un mecanism molecular independent de efectul său de antagonist competitiv al receptorilor histaminergici H1. Hydroxyzine inhibă şi eliberarea produşilor de secreţie din celulele leucemiei cu bazofile la şobolani [Fischer şi colab., 1995; citaţi bibl. 166], considerate echivalente cu mastocitele umane de la nivelul mucoaselor [Seldin şi colab., 1985; citaţi bibl. 166]. Hydroxyzine este eficient în reducerea simptomelor în sindromul cistitei interstiţiale. Doza recomandată pentru tratamentul acestui sindrom este de 75 mg/zi, în cazul administrării orale.

Pentru a obţine concentraţii eficiente de Hydroxyzine, în sindromul cistitei interstiţiale, se recomandă administrarea intravezicală a medicamentului [166]. Este singurul antihistaminic anti-H1 care poate inhiba eficient activarea mastocitelor mucoasei vezicale.

Poate fi administrat parenteral în asociere cu Morfina, pentru a potenţa analgezia postoperatorie [Hupert, Yacoub, Turgeon, 1980; citaţi bibl. 166].

• ***Cetirizine (ZYRTEC®)***, metabolitul activ al Hidroxizinului, nu traversează bariera hematoencefalică, nu prezintă efecte sedative şi prezintă efecte mai slabe inhibitorii asupra mastocitelor mucoaselor faţă de Hydroxyzine [Campoli - Richards, Buckley şi Fitton, 1990; citaţi bibl. 166].

• ***Difenhidramina*** este o etanolamină cu efecte anti-H1, care nu prezintă eficienţă în tratamentul sindromului cistitei interstiţiale [166].

• ***Azatadina*** este un derivat piperidinic, cu efecte anti-H1 şi anti 5-HTrα, care influenţează în proporţie de 11 % eliberarea Serotoninei din mastocitele mucoaselor [166].

2.1.3. Antihistaminicele anti-H2

• ***CIMETIDINA***, suprimă efectul histaminei de inhibare a chemotaxiei neutrofilului.

CIMETIDINA, RANITIDINA Şi FAMOTIDINA acţionează asupra proliferării celulare în procesele neoplazice, dependent de doză, astfel: Cimetidina inhibă proliferarea celulelor neoplazice, Ranitidina diminuă această proliferare, dar nesemnificativ statistic, iar Famotidina nu o influenţează. Efectele antiproliferative ale Cimetidinei sunt atribuite acţiunii sale asupra sistemului imunitar. Poate fi, astfel, anticipat rolul

Scanned with OKEN Scanner

chimioprotector al Cimetidinei la pacienţi cu leziuni precanceroase ale stomacului (cum ar fi gastritele atrofice cronice) şi în cazul metaplaziilor intestinale. Se sugerează ipoteza utilizării Cimetidinei ca agent imunoterapeutic "adoptiv" în aceste situaţii [Thornes şi colab., 1992; Tsunoda şi colab., 1992; Hahm şi colab., 1994; citaţi bibl. 90].

De asemenea, Cimetidina diminuă dezvoltarea metastatică şi creşte rata de supravieţuire la şoareci cu carcinoame pulmonare, deşi unii autori neagă existenţa receptorilor histaminergici H_2 la nivelul acestor celule [Bartholyns şi Bouclier, 1984; citaţi bibl. 90]. Efectul inhibării dezvoltării tumorale a fost notat şi în cancerul colorectal [Adams şi colab., 1994; citaţi bibl. 90]. Experimental, efectul Histaminei (care, administrată local, cu o minipompă osmotică, a stimulat creşterea tumorală la linia celulară C 170, din adenocarcinomul de colon uman) a fost antagonizat de Cimetidină, la o doză de minimum 200 mg/kgc/zi [90].

2.1.4. Inhibitori ai eliberării de Histamină

• ***CROMOGLICATUL SODIC, NEDOCROMIL şi compusul LCB 2183*** (aflat în stadiul al II-lea al experimentului clinic) inhibă răspunsul inflamator "întârziat" prin blocarea diferenţierii antigen specifice a limfocitelor T şi a activării eozinofilelor [176]. Aceste efecte sunt similare sau foarte apropiate cu cele ale Prednisolonului: Prednisolone > LCB 2183 > Cromoglicat sodic = Nedocromil.

Aceşti compuşi prezintă următoarele **indicaţii:**

- hipersensibilitatea de tip întârziat;
- dermatite alergice de contact;
- profilaxia rejetului grefei;
- boli autoimune;
- astmul bronşic alergic.

Faza precoce a hipersensibilităţii de contact este asociată cu o eliberare relativ selectivă de Serotonină din mastocite [Van Loveren H., Kraeuter-Kops S. şi Askenase P.W., 1984; citaţi bibl. 176], cu o eliberare de PGE_2 şi $LyTB_4$, $LyTC_4$ [Meurer R., Opas E.E. şi Humes J.F., 1988; citaţi bibl. 176], cu depunerea fibrinei [Mekori Y.A., Galli S.J., 1990; citaţi bibl. 176] şi cu o creştere a permeabilităţii vasculare [Askenase P.W., Rosenstein R.W. şi Ptak W., 1983; citaţi bibl. 176].

Nedocromil, Cromoglicatul disodic şi LCB 2183 inhibă răspunsurile mediate de IgE (ca, de exemplu, anafilaxia cutanată pasivă). LCB 2183 diferă de ceilalţi doi compuşi prin proprietatea sa de a inhiba componentele inflamatorii ale hipersensibilităţii întârziate de contact. LCB 2183 are, astfel,

Scanned with OKEN Scanner

proprietăţi antiinflamatorii, care îl apropie mai mult de efectele Prednisolonului, decât de cele ale Nedocromilului. De asemenea, efectele LCB 2183 se manifestă după administrarea intragastrică, spre deosebire de Nedocromil sau Cromoglicat disodic, la care efectele apar după administrare topică, la nivelul mucoasei bronşice.

LCB 2183 inhibă inflamaţia şi creşte rezistenţa căilor aeriene, producând şi o scădere a hiperreactivităţii bronşice [176].

Cromoglicatul sodic şi Nedocromil nu sunt eficiente în tratamentul cistitei interstiţiale [Kennelly şi Konnak, 1995; citaţi bibl. 166]. Acest aspect s-ar explica prin faptul că cei doi compuşi nu inhibă degranularea mastocitelor mucoasei vezicii urinare, implicate primar în sindromul cistitei interstiţiale [Theoharides şi colab., 1998; Pearce, Befus, Gualdie, Bienenstotk, 1982; citaţi bibl. 166].

2.2. SEROTONINA prezintă receptori la nivelul fagocitelor mononucleare şi a limfocitelor T. Ea determină stimularea funcţiilor celulelor imunocompetente şi producţia lor de citokine [50, 148, 198].

2.2.1. Inhibitorii recaptării Serotoninei şi agonişti ai receptorilor serotoninergici

• ***D-DEXFENFLURAMINA***, la pacienţii HIV pozitivi, creşte capacitatea limfocitelor CD8+ de a inhiba creşterea germenilor oportunişti microbieni şi a *Candidei albicans*, creşte capacitatea limfocitelor CD4+ de a prolifera, ca răspuns la mitogenul conA şi creşte concentraţia IL-2 produsă de limfocitele CD4+ şi CD8+ [161].

• ***D-FENFLURAMINA*** creşte numărul limfocitelor CD4 şi CD8, care produc IFNγ, atât la pacienţi HIV pozitivi, cât şi la subiecţi HIV negativi şi determină creşterea numărului de limfocite CD8+ care produc TNFα la pacienţii cu SIDA [161].

Se sugerează, astfel, că cei doi compuşi, d-Dexfenfluramina şi d-Fenfluramina, pot fi eficienţi în stimularea funcţiei imune la subiecţii imunodeprimaţi [Mathwes H.L. şi colab., 1988; citaţi bibl. 161].

3. PROSTAGLANDINELE ŞI LEUCOTRIENELE

Un rol important în reglarea activităţii unor componente celulare ale SI îl deţin PG şi LT. Aspectele legate de implicarea PG şi LT în activitatea SI au fost detaliate în subcapitolul 2.1.1.2.d.

Scanned with OKEN Scanner

4. DONORII DE OXID NITRIC ŞI INHIBITORII DE NOS

S-a demonstrat experimental că oxidul nitric (NO) posedă un număr mare de efecte biologice, fiind un important mediator şi/sau modulator al unor procese fiziologice şi fiziopatologice, în special, la nivel cardiovascular şi la nivelul SN. Unele dintre aceste efecte sunt, de asemenea, mai mult sau mai puţin asociate, direct sau indirect, cu funcţiile SI. Datele din literatură privind implicarea NO în activitatea SI sunt de multe ori controversate conflictuale [42, 121, 134, 165, 247, 273].

Producţia de NO se realizează sub acţiunea celor două tipuri de NO-sintetază (NOS): NOS-constitutivă (NOSc) şi NOS-inductibilă (NOSi). Există două izoforme de NOSc: NOSn şi NOSe (reflectând identificarea lor iniţială la nivel neuronal, respectiv, endotelial) a căror activitate este reglată de Ca^{2+} şi calmodulină [165, 247]. Expresia NOSc, normal prezentă în stare fiziologică, permite sinteza de NO ca mediator paracrin şi neurotransmiţător al SN nonadrenergic şi noncolinergic inhibitor (NANCi).

NOSi, independentă de Ca^{2+}, este exprimată în macrofage, neutrofile, celule endoteliale, celule musculare netede, astrocite, hepatocite, doar după stimularea acestora prin antigene bacteriene sau de către citokine proinflamatorii (cum ar fi, TNFα, IL-1 şi IFNγ). Odată exprimată, NOSi sintetizează mari cantităţi de NO într-o manieră prelungită, în contrast cu NO sintetizat pentru scurte perioade de timp de către izoformele constitutive [Liaudet L., 1998, citat bibl. 165]. De fapt, clasificarea NOS în cele 3 categorii reprezintă o simplificare, deoarece NOSe nu există doar în celulele endoteliale, fiind localizată şi la nivel plachetar şi chiar în unele populaţii neuronale, iar NOSn a fost identificată şi în epiteliul bronşic şi traheal, precum şi în muşchiul scheletic.

NOSi a fost identificată în multitudinea de celule deja menţionate, transcripţia acestei enzime fiind stimulată de endotoxine şi citokine (TNFα, IL-1, IFNγ) şi inhibată de GCS şi TGFβ, IL-4, IL-10. Mai mult, expresia NOSe poate fi indusă în anumite condiţii, cum ar fi, efortul fizic sau graviditatea, iar NOSi pare a fi constitutivă în anumite ţesuturi (epiteliul bronşic uman, rinichi de şobolan, unele ţesuturi foetale) [Moncada S. şi colab., 1997, citaţi bibl. 165].

Genele NOS umane sunt localizate pe cromosomii: 12 (NOSn: 150 Kb, 29 exoni); 7 (NOSe: 21-22 Kb, 26 exoni); 17 (NOSi: 37 Kb, 26 exoni) [Mayer B., 1997, citat bibl. 165].

Fiecare dintre cei trei izomeri ai NOS este produsul unei gene specifice, ceea ce are ca rezultat o omologie a secvenţei aminoacizilor de aproximativ 50 %.

Scanned with OKEN Scanner

Activarea NOSc poate fi realizată prin stimuli care cresc concentrația intracelulară a Ca^{2+}: acetilcholina, bradikinina, leucotrienele etc. Activitatea NOSc se traduce prin producerea, în timp scurt, a NO în concentrații picomolare.

NOSi nu necesită Ca^{2+} pentru activarea sa, fiind aproape insensibilă la nivelul intracelular al Ca^{2+}. Inducerea genei ce codifică NOSi are ca efect sinteza *de novo* a acestei proteine. După inducție, NOSi este activă 4-24 ore și sintetizează NO în concentrații nanomolare, deci, mai mari de 1000 de ori, decât cele generate de NOSc. O sinteză atât de crescută de NO devine citotoxică. Inducția NOSi este inhibată de GCS și de inhibitori ai sintezei proteice [Whittle B.J.R., 1997, citat. bibl. 165].

În mecanismele biomoleculare de activare a NOS sunt implicate două teorii [165]:

a) agenții care induc creșterea activității NOS determină o fosforilare a acestei enzime, urmată de translocarea acesteia de la nivelul membranei în citosol;

b) alte studii examinează rolul citoscheletului în producția de NO, fiind cunoscut faptul că agenții cu efect depolimerizant al microtubulilor induc inhibarea sintezei de NO.

Creșterea expresiei NOSi și a producției de NO reprezintă un răspuns adaptativ al organismului la agresiunea infecțioasă, inflamatorie și tumorală.

Stimulii "clasici" ai expresiei NOSi sunt citokinele proinflamatorii (IFN-γ, TNFα, IL-1) și LPS bacterian. Activarea NOSi necesită acțiunea simultană (costimulare) a mai multor factori inflamatori, cea mai frecventă asociere fiind între IFN-γ și LPS [165].

Expresia NOSi este inhibată de IL-4, IL-10, TGF-β, PDGF, GCS [Barnes P.J. și colab., 1995, citați bibl. 165].

NOSi este exprimată de celulele proinflamatorii (monocite, macrofage și PMN), precum și de: fibra musculară netedă vasculară, celula endotelială, celula epitelială, celulele mesangiale glomerulare, hepatocite, condrocite, keratinocite, celule pancreatice, chiar și de LyTh-1 și LyB, celule care nu prezintă în mod normal caracteristici ale celulelor inflamatorii.

Paraziții intracelulari (cum ar fi, plasmodiile, leishmania) sunt susceptibili la acțiunea NO.

Bacteriile (inclusiv micobacteriile), fungii, helminții și virusurile encefalitice sunt eliminați din organism prin intervenția NO [Nussler A., Koprowschi și Evans, 1993, citați bibl. 165].

Scanned with OKEN Scanner

Macrofagele sunt principalele celule care exprimă NOSi în prezenţa IFN-γ şi LPS, fiind implicate în apărarea antiinfecţioasă faţă de o gamă largă de germeni intracelulari şi extracelulari, precum şi în apărarea antitumorală.

Monocitele circulante produc NO, atunci când sunt activate de TNFα în asociere cu tulpini nevirulente de *Mycobacterium avium*, *Pneumocystis carinii* sau *Tripanosoma cruzi* [Dugas şi colab., 1995, citaţi bibl. 165]. IFN-γ şi IL-4 sunt principalele citokine activatoare ale monocitului circulant, care favorizează chemotactismul şi aderenţa monocitară şi determină diferenţierea terminală a monocitelor ajunse în ţesuturi.

Efectele directe ale citokinelor asupra producţiei de NO sunt diferite: IFN-γ stimulează expresia NOSi, în timp ce IL-4 o inhibă. Acţiunea inhibitorie a IL-4 este anulată odată cu fixarea IgE pe molecula CD_{23} a monocitului activat.

Fibra musculară netedă vasculară exprimă NOSi în prezenţa nivelurilor crescute de IL-1, în timp ce expresia NOSi de către hepatocite necesită acţiunea asociată a IFN-γ şi LPS plus IL-1 şi TNFα [Harbrecht B.G. şi colab., 1992, citaţi bibl. 165].

4.1. NO ŞI APĂRAREA NESPECIFICĂ *[273]*

4.1.1. NO şi creşterea tumorilor

Studii *in vitro* şi *in vivo* sugerează că NO endogen inhibă creşterea tumorilor [Hibbs J.B. şi colab., 1987; Stuehr D.J. şi Nathan C.F., 1989; Cui S. şi colab., 1994; Thomsen L.L. şi colab., 1992, citaţi bibl. 273] şi a metastazelor [Xie K. şi colab., 1995 a, b, 1996; Dong Z. şi colab., 1994, citaţi bibl. 273]. Astfel, NO este molecula endogenă care mediază rezistenţa BCG-indusă la progresia tumorilor experimentale singeneice şi xenogeneice.

Celulele producătoare de NO s-au dovedit a fi, în acest caz, macrofagele [Higuchi M. şi colab., 1990; Nathan CF, 1992; Cox G.W. şi colab., 1992, citaţi bibl. 273], precum şi celulele endoteliale [Li l şi colab., 1991; Estrada C. şi colab., 1992, citaţi bibl. 273].

Donorii de NO, cum ar fi, de exemplu, ***Isosorbide Dinitrate***, pot exercita proprietăţi anticanceroase şi antimetastatice [Pipili – Synetos E. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

Datele experimentale noi demonstrează, însă, că NO promovează, mai frecvent, decât inhibă, creşterea şi progresia tumorilor solide [Liu R.H. şi colab., 1994; Thomsen L.L. şi colab., 1994, 1995; Cobbs C.S. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273]. Astfel, s-a stabilit o corelaţie între expresia NOS şi gradul de dezvoltare a unor tumori la om, cum ar fi: tumorile de sân,

Scanned with OKEN Scanner

cancerul ovarian, cancerul de limbă, precum şi asocierea NOS cu creşterea metastazelor. În plus, tumorile malignizante ale SNC exprimă niveluri înalte ale activităţii NOS, care pot fi asociate cu procese fiziopatologice determinând creşterea acestora [Cobbs C.S. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

Efectul de potenţare în dezvoltarea tumorilor poate fi atribuit formării compuşilor N-nitroso carcinogenici [Liu R.H. şi colab., 1993, citaţi bibl. 273], acest proces fiind crescut în condiţiile producţiei susţinute de NO, ca de exemplu, în diferite afecţiuni inflamatorii persistente [Ohshima H. şi Bartsch H., 1994, citaţi bibl. 273], precum şi în unele viroze sau infecţii cu alte etiologii. Astfel, a fost raportată relaţia existentă între nitrosarea endogenă şi dezvoltarea colangiocarcinoamelor la om [Oshima H. şi Bartsch H., 1994; Haswell – Elkins M.R. şi colab., 1994, citaţi bibl 273]. Rezultă din aceste date că ***inhibitorii de NOS*** pot reduce dimensiunile tumorilor şi metastazele. Astfel, inhibitorii NO, acizi graşi ω-3 polinesaturaţi reduc riscul cancerului de colon, atât la om, cât şi la şobolan. Analogii de arginină blochează faza promoţională a transformării neoplazice a fibroblastelor de şoarece. Pe de altă parte, aceşti compuşi potenţează metastazele pulmonare ale carcinomului pulmonar Lewis şi ale melanomului B_{16}.

Angiogeneza este legată de progresia tumorilor şi a metastazelor. *NO posedă proprietăţi antiangiogenice* [Pipili – Synetos E. şi colab., 1995; Sakkoula E. şi colab., 1997, citaţi bibl. 273]. În alte condiţii experimentale, s-a demonstrat, însă, că NO mediază angiogeneza [Ziche M. şi colab., 1994, citaţi bibl. 273].

Efectul NO pe creşterea celulelor tumorale, ca şi pe reglarea creşterii celulelor normale este variabil, depinzând de tipul celulei şi stadiul culturii celulare, putând fi inhibitor sau stimulator.

Efectul stimulator al NO este mediat de GMPc, în timp ce efectul inhibitor al acestuia se pare că nu este dependent de GMPc.

4.1.2. NO şi infecţia

NO prezintă un rol esenţial în apărarea gazdei faţă de variate infecţii [273]:

- inhibă creşterea *Leishmaniei major* (NO eliberat de macrofage, pe modele experimentale de şoarece);
- prezintă acţiune "cidă" faţă de unii germeni intracelulari: *Francisella tularensis, Legionella pneumophila, Naegleria fowleri, Toxoplasma gondii, Trypanosoma cruzi;*
- pentru distrugerea unor patogeni, cum ar fi, *Listeria monocytogenes,* NO este necesar, dar nu este suficient;

Scanned with OKEN Scanner

- inhibarea creşterii *Mycobacterium avium* este influenţată atât de mecanisme NO dependente, cât şi de mecanisme NO independente;
- poate inhiba replicarea virală *in vitro*, dar datele n-au fost confirmate întotdeauna *in vivo;* inhibarea sintezei de NO a crescut rata supravieţuirii la animale cu pneumonie virală indusă experimental, aparent, pe calea reducerii leziunilor tisulare mediate de peroxinitrit [Akaike T. şi colab., 1996, citaţi bibl. 273];
- unele virusuri pot stimula producţia de NO în celulele infectate, cu deteriorarea efectelor virale asupra gazdei;
- multe virusuri neurotrope, cum ar fi, virusul rabiei, stimulează activitatea NOS în SNC şi, astfel, producţia crescută de NO poate contribui la realizarea unei mari varietăţi de simptome neurotoxice şi neurodegenerative, cel mai adesea, probabil, pe calea lezării creşterii permeabilităţii de către NO a barierei hematoencefalice;
- donorii de NO inhibă, dependent de doză, creşterea virală în cazul virusului encefalo-miocarditei, în celulele gazdei umane infectate cu virusul *Herpes simplex* tip 1 (HSV-1), dar producţia de NO mediată de HSV-1 nu garantează protecţia antivirală.

4.2. NO ŞI PROCESELE PATOLOGICE

4.2.1. Endotoxemia. Inflamaţia cronică. Neoplaziile.

LPS induce activarea NOSi şi, în consecinţă, creşterea producţiei de NO, determinând disfuncţii cardio-circulatorii, cum ar fi, insuficienţa răspunsului cardiac şi vascular, utilizare redusă a oxigenului de către ţesuturi, conducând în final la insuficienţa multiplă de organ severă şi moarte [273].

LPS creşte rapid expresia NOSi în macrofage, PMN, celule endoteliale, hepatocite, afectând, mai ales, plămânii, splina şi ficatul. În unele cazuri, medicamente care induc supresia producţiei de NO determină inhibarea secreţiei de citokine (de exemplu, Tetraciclinele), protejând şoarecii de experiment faţă de letalitatea endotoxemică [Milano S. şi colab., 1997, citaţi bibl. 273]. Totuşi, NO nu este "mediatorul obligatoriu" al depresiei funcţiei cardio-vasculare în endotoxemia acută [Hock C.E. şi colab., 1997, citaţi bibl., 273]. Studii experimentale ale endotoxemiei pe şoareci NOSi "Knockout", au arătat că deficienţa enzimatică determină fie lipsa protecţiei, fie o protecţie parţială în aceste situaţii.

Datorită capacităţii NO de a bloca agregarea plachetară şi adeziunea leucocitelor, reducând, astfel, staza microvasculară şi trombozele, NO poate fi considerat că prezintă unele efecte benefice în şocul septic. Au fost evaluate, astfel, atât efectele benefice, cât şi cele nedorite ale inhibitorilor de

Scanned with OKEN Scanner

NOS, ca "scavenger" în şocul septic. Inhibarea poate conduce la creşterea leziunilor ficatului şi plămânilor, a producţiei de TNFα şi de IL-6, hipertensiune pulmonară, ischemia miocardică etc. şi adesea la reducerea posibilităţilor de supravieţuire. Consecinţele deteriorative se pare că rezultă din inhibarea concomitentă a NOSe. O posibilă explicaţie a acestor efecte şi a altor efecte secundare ale inhibitorilor de NOS ar consta în reducerea sistemului de transport celular al L-argininei y^+ prin folosirea substratului alternativ L-lisină sau a unui compus sintetic: CNI-1493 [Bianchi M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

Expresia limitată a NOSi, în inflamaţia acută, la nivelul celulelor situate la "poarta de intrare" a agentului infecţios sau inflamator se poate "generaliza" în cazul şocului septic sau se poate "permanentiza" în cazul inflamaţiei cronice [165].

Şocul endotoxinic indus experimental la şoarece, prin administrare ip de LPS [Kilbourn R.G. şi colab., 1990, citaţi bibl. 165], este caracterizat şi printr-o activitate crescută a NOSi la nivelul macrofagelor din ficat şi splină, la nivelul epiteliilor bronşice, ductul biliar, tractul urinar, la nivelul mucoasei gastrice şi intestinale. În aceste cazuri, expresia NOSi este corelată cu leziuni celulare evidente.

Şocul septic determinat de necroza hepatică [Harbrecht B.G. şi colab., citaţi bibl. 165], indus la şoarece experimental, cu *Corynebacterium parvum* şi LPS, se caracterizează prin niveluri crescute de NOSi în hepatocite, celulele Kupffer, celulele infiltrative din structura granuloamelor hepatice şi în celulele epiteliului ductului biliar. Odată exprimată în inflamaţia acută, NOSi rămâne activă timp de mai multe ore [Kilbourn R.G. şi colab., 1990, citaţi bibl. 165]. Acţiunea NO interferă cu aceea a altor mediatori, care pot avea efecte de potenţare sau de neutralizare a NO, rezultatele experimentale obţinute *in vivo* fiind uneori contradictorii. Efectele NO în procesul inflamator sunt heterogene şi duale, dependente într-o proporţie crescută de tipul "celulei ţintă". Consecinţele benefice sau nefavorabile ale NO depind de gradul şi durata expresiei NOSi, de condiţiile de micromediu în care se realizează această expresie.

Se sugerează că niveluri de NO de ordinul picomolilor sunt, în general, benefice, iar niveluri de ordinul nanomolilor au efecte nefavorabile [Ketteler şi Distler, 1996, citaţi bibl. 165]. Producţia susţinută de NO într-un mediu unde sunt prezente alte molecule toxice sau în care mecanismele protectoare naturale sunt depăşite, conduce la efecte nefavorabile [Gross S.S. şi colab.,1995, citaţi bibl. 165]. De asemenea, când procesul inflamator este rezultatul unei reacţii adaptative, NO exercită efecte benefice pentru

Scanned with OKEN Scanner

organism, în timp ce, atunci când inflamaţia este rezultatul unui proces maladaptativ, asociat uneori cu o componentă imunologică, NO exercită efecte nefavorabile, care pot sta la baza dezvoltării afecţiunilor autoimune şi a proceselor neoplazice pe fondul unei inflamaţii cronice.

S-a emis ipoteza că expresia NOSi este rezultatul unor evenimente finale în evoluţia nefavorabilă a leziunilor celulelor pancreatice din diabetul zaharat juvenil [Moncada S. şi Higgs E.A., 1991, citaţi bibl. 165].

Celulele adenocarcinomatoase exprimă, de asemenea, NOSi, ceea ce sugerează implicarea acesteia în neoplazii [Sherman şi colab., 1993, citaţi bibl. 165].

Toate aceste date conduc la ipoteza că ***inhibitorii de NOSi*** ar putea fi utilizaţi în scopul ameliorării unor boli cu componentă imunologică, cum ar fi: vasculitele autoimune, artrita reumatoidă, colita ulcerativă, rejetul de allografă renală, encefalomielita alergică [Catell şi Jensen, 1994, citaţi bibl. 165].

În cadrul procesului inflamator şi al RI al organismului, **NO** produce următoarele **efecte biologice [165]** :

- efecte citotoxice faţă de agenţii infecţioşi şi citostatice faţă de celulele tumorale (ce se pot extinde şi asupra celulelor "sănătoase" din vecinătatea focarului inflamator şi chiar împotriva propriei surse celulare, prin difuziunea uşoară a NO în spaţiul intercelular şi în "celula ţintă"), realizate prin inactivarea unor enzime cheie ale lanţului respirator, ale metabolismului energetic, implicate în sinteza ADN, în procesele de reparare tisulară şi diferenţiere terminală, prin interacţiuni cu grupări 4 Fe/4 S;
- stimularea apoptozei celulare;
- vasodilataţia şi creşterea permeabilităţii capilare, în scopul "maximizării" perfuziei tisulare la locul de apariţie a focarului septic (inhibiţia neselectivă a NOSi în şocul septic, pentru scăderea vasodilataţiei şi ameliorarea parametrilor hemodinamici, este urmată, în mod paradoxal, de agravarea hipotensiunii arteriale şi, de aceea, efectele benefice pot fi obţinute numai prin coadministrarea unui donor de NO);
- secreţia endogenă redusă de NO se asociază cu producţii crescute de PG pe calea COX, în timp ce niveluri crescute de NO (ca cele din inflamaţie) se asociază cu inhibiţia COX, a 12-lipooxigenazei şi a citocromului P_{450} [Gross şi Wolin, 1995, citaţi bibl., 165];
- inhibarea acumulării de PMN în focarul inflamator (administrarea de inhibitori ai NOSi determină creşterea adezivităţii PMN la endoteliu printr-un mecanism dependent de CD_{18}); epiteliul alveolar este capabil să se protejeze el însuşi împotriva infiltratului de PMN, producând el însuşi NO,

Scanned with OKEN Scanner

la nivelul unui compartiment delimitat de situsurile de adeziune dintre PMN şi celula epitelială (NO inhibă, la acest nivel, selectiv, funcţia citotoxică a PMN îndreptată împotriva epiteliului alveolar, fără a afecta funcţia citotoxică a acestora împotriva agentului patogen , mecanismul de protecţie fiind legat de capacitatea NO de a neutraliza produşii toxici ai PMN, în special, speciile reactive ale oxigenului [Terashima şi colab., 1996, citaţi bibl. 165];

- NO produs de monocitele circulante activate de citokine, exercită efecte autocrine traduse prin creşterea adezivităţii, chemotactismului şi diferenţierea terminală a monocitelor (infiltratul macrofagic şi producţia de NO sunt dependente de expresia moleculei CD_{23}, receptorul de joasă afinitate a IgE, care mediază un mecanism de apărare nespecifică a organismului, iar administrarea zilnică de inhibitori ai NOSi reduce semnificativ infiltratul de macrofage din faza cronică a inflamaţiei, fără să influenţeze infiltratul celular de tip PMN din faza acută);

- subpopulaţia de LyTh-1 (care mediază hipersensibilitatea de tip întârziat) produce cantităţi importante de NO cu efecte imunosupresoare autocrine privind proliferarea şi producţia de citokine (în contextul evoluţiei unei inflamaţii cronice, având la bază un infiltrat de mononucleare reprezentat de macrofage şi LyT, care exprimă simultan NOSi);

- deprimarea funcţiei LyTh-1 de către NO se realizează indirect, prin stimularea subpopulaţiei LyTh-2, ce modulează prin citokinele produse răspunsul imun umoral (deşi nu produce NO, subpopulaţia LyTh-2 reglează prin aceleaşi citokine producţia de NO a macrofagelor, IL-4 şi IL-10 fiind inhibitorii direcţi ai expresiei NOSi);

- NO modulează răspunsul imun la nivelul epiteliului bronşic, în sensul inhibării răspunsului imun celular şi stimulării răspunsului imun umoral [Barnes P.J. şi colab., 1995, citaţi bibl. 165];

- niveluri crescute de NOSi conduc la creşterea toleranţei la allografa renală [Langrehr şi colab., 1993, citaţi bibl. 165], prin supresia proliferării şi dezvoltării liniei LyTc (sursa de NO fiind însăşi allografa, prin infiltratul de mononucleare prezent în interstiţiu şi la nivelul glomerulilor, bine reprezentat în zilele a 4-a şi a 5-a a rejetului de grefă, fără ca aceste aspecte să fie corelate cu leziunile vasculare caracteristice rejetului).

4.2.3. Encefalomielita alergică experimentală *(EAE)*

Citokinele proinflamatorii, radicalii liberi de oxigen şi NO participă la patogeneza EAE şi a sclerozei multiple (SM) [Hartung H.P. şi colab., 1992, citaţi bibl. 273].

Scanned with OKEN Scanner

Expresia ARNm al NOS şi producţia de NO sunt crescute la nivelul SNC al animalelor cu EAE şi corelate cu gradul de severitate al bolii. Manipularea farmacologică a EAE folosind inhibitori de NOS nu pare să fie întotdeauna încurajatoare. Astfel, 7-nitroindozol, un inhibitor selectiv, *in vivo* al NOSn ameliorează parţial sau nu ameliorează severitatea bolii, în timp ce, Aminoguanidina, un inhibitor selectiv de NOSi, fie este ineficientă, fie abrogă boala, fie îi agravează progresia. Inhibitorul nespecific, esterul N^G-nitro-L-arginină metil, exacerbează sau nu are efect asupra simptomelor bolii.

4.2.4. Boli inflamatorii intestinale

NOSi este prezentă în celulele mucoasei gastrice [Brown J:F: şi colab., 1994, citaţi bibl. 273] şi în ţesutul colonului [Mourelle M. şi colab., 1996, citaţi bibl. 273].

În duoden, ileon şi celulele epiteliale intestinale, NO este produs primar ca rezultat al activităţii NOSi. Se sugerează, astfel, că prezenţa constitutivă a NOSi în epiteliul ileal, la şoarecii normali, "germ-free" şi nuzi, indică rolul fiziologic al acestei enzime în menţinerea homeostaziei intestinale [Hoffman R.A. şi colab., 1997, citaţi bibl. 273].

Producţia excesivă de NO a fost observată la pacienţi cu boli inflamatorii intestinale, cum ar fi colitele ulcerative (CU) şi boala lui Crohn (Crohn's disease, CD). Desferoxamine, un "scavenger" al radicalului peroxinitrit sau superoxid-dismutaza protejează împotriva leziunilor gastrice provocate de donorii de NO, pornind de la punctul de vedere că peroxinitritul, mai mult decât NO "per se", este o specie citotoxică în aceste modele experimentale.

Utilizând modele animale experimentale, s-a constatat că inhibarea producţiei inductibile de NO scade leziunile gastro-intestinale induse de LPS, peptidoglican//polizaharid, acid 2, 4, 6 – trinitrobenzen – sulfonic sau acid acetic. Este, totuşi, posibil, ca în unele stadii ale dezvoltării bolii, NO, probabil, pe calea reducerii infiltrării leucocitelor, să posede efecte benefice. De exemplu, NO protejează mucoasa de leziunile ischemice de reperfuzie [Kubes P., 1993, citat bibl. 273]. În concordanţă cu aceasta, inhibitorii sintezei de NO rămân în unele cazuri ineficienţi sau chiar cresc dezvoltarea inflamaţiei.

Scanned with OKEN Scanner

4.3. RĂSPUNSURILE IMUNOBIOLOGICE SPECIFICE

4.3.1. Expresia Ag MHC II (Ia)

Macrofagele activate de citokine prezintă capacitatea de a prezenta Ag şi de a stimula LyT, ca şi celulele tumoricide. Datele privind influenţa NO asupra inducerii Ia sunt controversate. S-a demonstrat că expresia Ia indusă de IFN-γ la macrofagele de şoarece este suprimată de către IFNα/β [Kamijo R. şi colab., 1993, citaţi bibl. 273], fiind cunoscut faptul că IFNα/β scade producţia de NO [Deguchi M.şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

NO indus de IFNγ coparticipă la dezvoltarea expresiei Ag Ia la nivelul celulelor de astrocitom la om [Colasanti M. şi colab., 1993, citaţi bibl. 273]. Efectul a fost redus prin coincubarea cu L-NAME, un inhibitor selectiv al producţiei de NO. În plus, albastrul de metilen, care inhibă activitatea biologică a NO, pe calea guanilat-ciclazei, antagonizează puternic expresia AgIa. Pe de altă parte, IL-4, care nu modifică creşterea producţiei de NO în astrocitele de şobolan, după IFN-γ, produce "down"-reglarea Ag Ia în aceste celule [Marga E. şi Heuschling P., 1996, citaţi bibl. 273]. S-a demonstrat experimental că producţia de NO precede inhibarea Ia produsă de LPS pe macrofage stimulate cu IFN-γ şi că expresia Ia poate fi "restaurată" sub acţiunea L-MMA (un inhibitor al formării de NO) sau prin cultivarea celulelor în mediul cu L-arginină liberă. Mai mult chiar, NO exogen inhibă expresia Ia stimulată de IFN-γ.

4.3.2. Activitatea NO la nivelul celulelor NK/LAK

Unele date experimentale sugerează că NOS este o cale a proceselor care mediază citotoxicitatea celulelor NK. Activitatea celulelor NK este stimulată după administrare de BCG pe calea producerii de IFN-γ şi TNFα. Formarea insuficientă de NO după administrare de BCG inactivat este datorată incapacităţii de a induce IFN-γ [Yang J. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273]. S-a demonstrat că mecanismele efectoare ale celulelor NK umane, care au ca rezultat citoliza "ţintei", necesită L-arginină şi sunt strâns asociate cu acumularea de nitrit şi citrulină. Adiţional, inhibitorul producţiei de NO, L-NMMA, inhibă activitatea citolitică a celulelor NK [Xiao L. şi colab., 1995 a, citaţi bibl. 273].

De asemenea, NO este necesar pentru activitatea celulelor NK activate de limfokine (LAK), în cazul stimulării celulare sub acţiunea IL-2. Activitatea NOS a crescut gradat în timpul generării LAK şi în paralel cu capacitatea crescută a celulelor NK activate de IL-2, de a liza "ţintele" celular rezistente la NK [Cifone M.G. şi colab., 1994, citaţi bibl. 273]. S-a

Scanned with OKEN Scanner

observat că inhibitorii de NO previn generarea de LAK în culturile de celule splenice.

Generarea a fost imposibilă în absenţa L-argininei. În plus, Nitroprusiatul de sodiu, care eliberează NO a anulat efectele blocante ale NMMA. Pe de altă parte, NMMA nu a afectat generarea celulelor LAK din celulele sângelui periferic uman [Juretic A. şi colab., 1994, citaţi bibl 273]. Adăugarea agenţilor eliberatori de NO inhibă activitatea citolitică a celulelor NK faţă de celulele infectate cu citomegalovirus, în timp ce antagoniştii NO pot "restaura" această activitate [Ito M. şi colab., 1996, citaţi bibl. 273]. Efecte "down-regulation" similare ale NO asupra citotoxicităţii celulelor NK au fost confirmate şi de alţi autori, care sugerează rolul GMPc în medierea acestei supresii la om [Xiao L.şi colab., 1995b, citaţi bibl. 273].

4.3.3. Apoptoza

Proprietăţile proeminente ale citotoxicităţii mediate de NO sunt ***apoptoza*** [Albina J.E. şi colab., 1993; Sarih M. şi colab., 1993; Ankarcrona M. şi colab., 1994; Fehsel K. şi colab., 1995; Kaneto H. şi colab., 1995; Shimaoka M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273] şi ***necroza*** [Bonfoco E. şi colab., 1995; Mitrovic B. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273], care pot fi exprimate diferenţiat de diferite tipuri de celule sau în diferite stadii de maturare celulară [Maciejewski J.O. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

Mecanismul apoptozei/morţii celulare şi anume, inhibarea respiraţiei mitocondriale împreună cu ruperea lanţului ADN se pare că este mai curând realizat de peroxinitrit sau GMPc/proteinkinaza G decât de NO [Nunokawa Y. şi Tanaka S., 1992, citaţi bibl. 273]. Rolul formării NO în restricţia proliferării celulare [Albina J.E. şi colab., 1993; Mebmer U.K. şi colab., 1994; citaţi bibl. 273] rămâne controversat. Deşi s-a demonstrat că IFN-γ, un inductor puternic al expresiei NOSi, inhibă sintezele ADN, creşterea şi diviziunea celulară, printr-un mecanism dependent de NO, lipopeptidele bacteriene, care, de asemenea, induc producţia de NO, pot stimula apoptoza/moartea celulară la nivelul macrofagelor peritoneale de şobolan şi la nivelul celulelor musculare netede aortice de şobolan, într-un mod independent de NO. Mai departe, IL-1β care induce NO într-o mare varietate de ţesuturi, suprimă, dependent de doză, apoptoza în foliculii ovarieni de femelă- şobolan prin creşterea producţiei de NO; ambele dintre aceste efecte putând fi înlăturate cu inhibitori de NOS [Chun S.Y. şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

Scanned with OKEN Scanner

4.4. OXIDUL NITRIC ŞI AUTACOIZII IMUNOMODULATORI

4.4.1. Citokinele şi NO

Activitatea NOSi este exprimată numai după activarea celulelor (un prototip celular fiind macrofagul) cu LPS sau direct cu citokine. În consens, limfokinele produse de LyTh-1 de rozătoare (TNFα, IFN-γ) se consideră că realizează "up-regulation", în timp ce acelea secretate de LyTh-2 (IL-4, IL-10 şi IL-13) produc "down"-reglarea NOSi. În acord cu aceste aspecte, supresia producţiei de NO de către IL-4 sau IL-10 pot atenua capacitatea macrofagelor de a avea acţiune "cidă" pentru variaţi paraziţi sensibili la NO, cum ar fi: *Leishmania, Toxoplasma sau Schistosoma* [Gazzinelli R.T. şi colab., 1992; Vouldoukis I. Şi colab., 1997, citaţi bibl. 273]. Au fost, însă, raportate excepţii semnificative de la această regulă generală. Astfel, dacă se adaugă IL-4 după ce NOSi a fost deja activată de IFN-γ, se poate produce o creştere a producţiei de NO de către macrofagele de rozătoare. Monocitele umane produc NO *in vitro* ca răspuns la IFN-γ şi IL-4. IL-4 stimulează, de asemenea, producţia de NO prin subpopulaţia scăzută producătoare (a monocitelor umane) şi stabilizează ARNm al NOSi indus. În mod similar, nu întotdeauna există această inducere a ARNm al NOSi şi, în consecinţă, formarea NO este inhibată de un cunoscut supresor al NO, TGFα.

Date experimentale conflictuale evidenţiază procese cumulative pe interferenţa IL-10 în biosintezele de NO. Deşi date experimentale numeroase susţin ipoteza "down"-reglării producţiei de NO de către IL-10, aceste aspecte sunt controversate. Astfel, IL-10 nu afectează *in vitro* formarea nitriţilor şi a nitraţilor de către celulele mezangiale de şoarece activate de LPS şi nici nu reduce producţia *ex vivo* a NO de către macrofagele peritoneale de şoarece tratate sistemic cu LPS. În plus, nici IL-10 endogenă, nici cea exogenă nu afectează producţia de NO de către mucoase pe un model de boală inflamatorie intestinală la şobolan. Printr-un puternic contrast, IL-10 a crescut inducerea ARNm al NOSi la celule RAW 264.7 de rozătoare, după tratamentul cu IFN-γ sau IFN-γ plus LPS. În final, unele efecte pe ARNm al NOSi, ca şi eliberarea substanţial crescută de nitriţi au fost descrise în prezenţa IL-10/TNFα/TNFγ, în culturi de macrofage derivate din măduva rozătoarelor. Aceste date susţin punctul de vedere conform căruia IL-10 nu este un factor deactivator general al macrofagului sau un supresor al expresiei genei acestuia.

Invers, NO poate regla producţia de citokine. S-a demonstrat o creştere dependentă de concentraţie, LPS-indusă, a secreţiei de TNFα de către linia de macrofage J774, după adăugarea în cultura celulară a L-NMMA, dar acest aspect poate fi antagonizat de L-arginină sau de un

Scanned with OKEN Scanner

donor NO (SIN-1). În acord cu aceasta, nivelurile serice ale TNF-α la şobolani trataţi cu LPS au fost crescute la animale pretratate cu L-NMMA şi scăzute la acelea care au primit L-arginină. Date similare au fost obţinute utilizând macrofage tip RAW 264.7 sau celule mononucleare din sângele periferic uman. Totuşi, datele referitoare la efectul NO asupra sintezei de TNFα sunt controversate, ţinând cont de faptul evidenţiat experimental că secreţia de TNFα este scăzută în celulele J 774 şi la şoarece.

4.4.2. Prostaglandinele şi NO

Macrofagele exprimă atât COX-1 (constitutivă), cât şi COX-2 (inductibilă). În mod similar cu NOSi, COX-2 este activată de LPS, citokine şi factori de creştere. Diferite rapoarte menţionează că peroxinitritul şi concentraţia scăzută de NO activează ciclooxigenaza, rezultând o creştere a sintezei de PG [Salvemini D. şi colab., 1993, 1994; Davidge S.T. şi colab., 1995; Sautebin L.şi colab., 1995; Landino L.M. şi colab., 1996; Tetsuka T. şi colab., 1996, citaţi bibl. 273], în timp ce alţi autori descriu o funcţie modulatorie negativă a NO, când acesta este produs în concentraţii înalte [Stadler J. şi colab., 1993; Swierkosz T.A. şi colab., 1995; Matthews J.S. şi colab., 1995; Minghetti L.şi colab., 1996, citaţi bibl. 273]. Astfel, inhibarea producţiei de NO de către macrofagele peritoneale la şobolani trataţi cu LPS, prin administrare de L-NMMA sau cu Aminoguanidină, produce o creştere a activităţii COX; acest efect este înlăturat de administrarea de donori de NO [Habib A. şi colab., 1997, citaţi bibl. 273]. Se pare că în acest caz intervin interacţiuni mutuale între căile NOS şi COX. Concentraţiile de PG cresc prin activarea COX –2 şi pot reduce, în "cascadă", expresia NOSi în macrofagele de rozătoare şi celulele mezangiale de şobolan.

4.4.3. NO şi AMPc

PG imunomodulatorii acţionează pe receptorii corespunzători de pe macrofage, LyB şi LyT, având ca mesager secund AMPc. Nu este, deci, surprinzător faptul că, AMPc, deşi ineficient per se, este un modulator al producţiei de NO sub acţiunea IFN-γ. În unele cazuri au fost raportate atât interacţiuni pozitive, cât şi interacţiuni negative. Aceste date conflictuale pot fi reconciliate prin experimente recente ale lui Mullet D. şi colab. [1997, citaţi bibl. 273], care demonstrează că AMPc acţionează în mod bifazic, dependent de doză. O creştere foarte înaltă a nivelului de AMPc inhibă, în timp ce o creştere de mică intensitate poate produce creşterea producţiei de NO. Astfel se poate produce o creştere a producţiei de IgE pe calea PGE

Scanned with OKEN Scanner

(mediată de AMPc) şi nu trebuie să fie surprinzător rolul dual al NO în răspunsurile alergice, cum ar fi astmul bronşic.

4.4.1. NO şi fierul

Există o serie de reglatori fiziologici ai NO cu efecte duale. De exemplu, concentraţii crescute ale fierului cu GM mică reduc transcripţia NOSi mediată de IFN-γ/LPS şi formarea NO, în timp ce privarea de fier are efecte opuse. Creşterea concentraţiei de fier reduce transcripţia NOSi mediată de IFN-γ/LPS şi, astfel, scade formarea NO, în timp ce privarea în aceste condiţii a fierului, conduce la o creştere a producţiei de NO; o cantitate prea mare de fier se ştie că favorizează creşterea bacteriilor [Alford C.E. şi colab., 1991, citaţi bibl. 273].

4.5. FACTORI MAJORI DETERMINANŢI ÎN INTERFERAREA CU EFECTELE IMUNOBIOLOGICE ALE NO

4.5.1. Suplinirea cu L-arginină

Transportul transmembranar al L-argininei se realizează primar prin afinitate crescută a sistemului cationic y^+, sodiu-independent, care poate fi substanţial stimulat cu LPS, IL-1α şi TNFα [Lind D.S. şi colab., 1993, citaţi bibl. 273]. Deoarece ornitina şi lizina, ca şi analogii metilaţi ai argininei (inhibitori ai producţiei de NO) competiţionează la acelaşi sistem y^+, ele pot inhiba competitiv recaptarea argininei [Sato H. şi colab., 1992, citaţi bibl. 273]. Concentraţii intracelulare suficiente ale L-argininei pot fi, totuşi, suportate, prin formarea ei endogenă din L-citrulină, descrise atât la nivelul macrofagelor, cât şi la nivelul celulelor endoteliale, asigurând, astfel, concentraţii adecvate ale L-argininei pentru formarea de NO în locurile unde disponibilitatea pentru L-arginina exogenă este scăzută, cum ar fi, de exemplu, plăgile [Morris S.M., 1992, citat bibl. 273].

Este interesant de remarcat faptul că celulele endoteliale sunt independente de transportul L-argininei în producţia lor de NO [Sessa W.C. şi colab., 1990, citaţi bibl. 273]. S-a demonstrat recent că în anumite condiţii, cerând concentraţii mari de L-arginină, nivelul NO poate creşte printr-o cale neenzimatică, prin reacţia între hidrogen peroxid cuplat cu arginină, dar, de asemenea, cu un inhibitor de NOS, L-NAME [Nagase S. şi colab., 1997, citaţi bibl, 273]. Acest fapt ar putea constitui o explicaţie plauzibilă pentru unele observaţii conflictuale, care arată că excreţia urinară a produşilor NO la şobolanii anesteziaţi a crescut după administrare de L-NAME şi a fost observat un efect similar în cazul incubării pe termen lung a glomerulilor izolaţi [Sűtő T şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

Scanned with OKEN Scanner

4.5.2. Căi alternative ale metabolismului L-argininei

Enzima ***arginaza*** competiţionează cu NOS pentru substratul L-arginină, convertind L-arginina la L-ornitină şi uree, limitând, astfel, disponibilitatea sa pentru sinteza de NO.

Deşi arginaza pare o enzimă constitutivă, activitatea sa poate fi stimulată de "down"-reglatorii NOS, cum ar fi, TGF-β, IL-4, IL-10, IL-13 şi IL-3. Datele asupra efectelor GM-CSF sunt controversate [Schneider E. şi colab., 1985; Modolell M. şi colab., 1996, citaţi bibl. 273]. IFN-γ singur nu poate induce arginaza, ba, chiar, mai mult o inhibă. LPS stimulează atât NOSi, cât şi activitatea arginazei. În timp ce în absenţa IFN-γ, combinaţia TNF-α şi LPS stimulează conversia L-argininei în ornitină, combinaţia IFN-γ plus TNF-α/LPS inhibă producţia de ornitină. Expunerea macrofagelor la IFN-γ conduce exhaustiv la capacitatea lor de a răspunde în continuare la inductorii arginazei şi de a determina conversia acesteia, iar expunerea la inductorii arginazei conduce la capacitatea lor de a răspunde la inductorii NOSi. Schimbarea metabolismului L-argininei pe calea NOS se pare că depinde de un complex de condiţii în care nivelul NOSi este foarte important. Creşterea formării prolinei şi poliaminelor, rezultând din metabolizarea L-argininei la ornitină pe calea arginazei, este necesară pentru replicarea celulară şi poate contribui la progresia unor boli, cum ar fi glomerulonefritele cronice fibrotice sau promovarea creşterii tumorilor.

4.5.3. NO şi micromediul biochimic

Efectele NO (ca produs endogen) pot fi puternic influenţate de CO, care este produs în mod selectiv la stimularea expresiei hem-oxigenazei-1 de către NO [Durante W. şi colab., 1997, citaţi bibl, 273]. Prin legarea la jumătăţile hemului, CO inhibă activitatea NOSi [Klatt P. şi colab., 1992; Baek K.J. şi colab., 1993, citaţi bibl. 273] şi, astfel, se declanşează unul dintre cei mai importanţi factori în cadrul mecanismelor autocrine de feed-back negativ pe calea L-arginină/NO. În plus, activarea hem-oxigenazei conduce la formarea paralelă de biliverdină şi bilirubină, care sunt puternici epuratori ("scavengeri") ai speciilor reactive de oxigen [Stocker R., şi colab. 1987; Neuzil J. şi Stocker R., 1993, citaţi bibl. 273]. Prezenţa unei concentraţii de CO_2 în cadrul sistemului ar putea fi importantă deoarece aceasta intervine în oxidările mediate de peroxinitril şi în nitrosilări [Uppu R.M. şi colab. 1996, citaţi bibl, 273], care pot fi importante în "ţintirea" unor procese, cum ar fi, apoptoza.

Scanned with OKEN Scanner

4.5.4. Sensibilitatea sau rezistența celulară la NO

Unele ținte tumorale, cum ar fi, celulele L 929, sunt complet rezistente la NO. Altele, de exemplu, celulele eritroleucemice umane K 562 sau celulele P 815, sunt foarte sensibile la moartea celulară mediată de NO, indus de citokine.

Citotoxicitatea macrofagelor față de celulele sensibile la acțiunea NO nu poate fi explicată numai prin efectele NO [Mateo R.B. şi colab., 1996, citați bibl. 273].

Efectele citotoxice ale metaboliților argininei produc leziuni nu numai la nivelul celulelor tumorale, ci chiar şi la nivelul macrofagelor, acestea fiind aparent dependente de extinderea formării NO. Unele dintre alte celule efectoare, de exemplu, celulele musculare netede vasculare de şobolan, pot fi foarte rezistente la acțiunea citotoxică a NO. De asemenea, se poate observa rezistența celulelor efectoare la acțiunea citotoxică a compuşilor NO, la nivelul celulelor T citotoxice. În acest sens, există diferite explicații. Celulele musculare netede, vasculare, care sunt puternic rezistente la inhibitorii respirației celulare, pot utiliza preferențial ATP derivat pe calea glicolitică, pentru suplinirea transportului său ionic. Ca un suport pentru susținerea acestei afirmații, este faptul că la nivelul celulelor musculare netede vasculare activate de citokine se realizează o creştere a glicolizei şi aceste celule supraviețuiesc în condițiile inhibării respirației mitocondriale [Geng Y. J. şi colab., 1992, citați bibl. 273]. Se poate vorbi la acest nivel de o "balanță delicată" între procesele de oxidare mediate de peroxinitrit şi calea endogenă anti-oxidantă care limitează reactivitatea peroxinitritului [Mayer B. şi colab., 1995, citați bibl. 273]. Epuratorii ("scavengerii") peroxinitritului sunt reprezentați de: acidul uric, cisteina, glutationul, acidul ascorbic, desferoxamina, vitamina E [Szabo C, 1996, citat bibl. 273]. Mecanismele protectoare față de efectele deteriorative ale NO au fost identificate în hepatocitele de şobolan, deoarece NO generat endogen, nu numai că deprimă aconitaza din acestea, dar şi activitatea oxidoreductazei. S-a demonstrat că peroxinitritul produce apoptoza la nivelul timocitelor din şobolan, al celulelor leucemice umane şi al altor linii celulare, dar nu şi la nivelul monocitelor din sângele normal sau al celulelor din endoteliul ombilical.

4.5.5. Sursele de NO

Există diferențe între efectele biologice ale NO endogen. Astfel, în timp ce inhibitorul selectiv de NOSi, Aminoguanidina, creşte funcțiile leucocitelor TNF-α-induse, donorul de NO, Spermine-NO, rămâne ineficient față de acestea.

Scanned with OKEN Scanner

Un alt inhibitor de NO, Sydnonimine (SIN-1), afectează neutrofilele umane, prin mecanisme independente de NO sau pe calea peroxinitritului.

Nu sunt bine elucidate efectele secundare independente de NO ale donorilor de NO sau ale inhibitorilor de NO.

4.5.6. Participarea mecanismelor efectoare asociate cu NO sau independente de NO la realizarea unor efecte biologice

Importanţa moleculei efectoare NO poate fi relativă, implicând concomitent şi alţi factori de apărare ai organismului. Diferite molecule citotoxice au fost considerate drept "candidate" plauzibile pentru mecanismul de "ucidere" a tumorilor, de către macrofagele activate, dintre acestea putând menţiona: TNF-α, IL-1, peroxidul de hidrogen sau proteazele citolitice. În mod similar, variate molecule efectoare sunt implicate în controlul multiplicării patogene. Este important de reţinut faptul că nivelurile intracelulare ale unora dintre acestea, cum ar fi, triptofanul şi fierul, sunt reglate de cel mai puternic activator al NO: IFN-γ. Se pare că nu întotdeauna mecanismele de apărare ale gazdei acţionează într-o manieră sinergică, de sumare sau potenţare.. De exemplu, deşi TNF-α "up"-reglează producţia de NO virucidal şi este antiviral, este cunoscut faptul că promovează expresia unor Ag virale, cum ar fi, HIV. În mod similar, complexitatea proceselor inflamatorii acute sau cronice este foarte dificil de disecat în ceea ce priveşte implicarea NO între mediatorii inflamaţiei, cum ar fi, PG, PC sau TX.

4.5.7. Diferenţe între specii şi tipuri celulare

În contrast cu celulele de şoarece, macrofagele peritoneale de şobolan demonstrează o expresie detectabilă a ARNm bazal de NOSi şi produc niveluri considerabile de NO *in vitro*. În mod similar, macrofagele alveolare de şobolan produc L-citrulină constitutivă şi L-ornitină constitutivă.

Activitatea NOSi de şobolan poate fi crescută de LPS, în timp ce macrofagele alveolare de iepure nu sunt sensibile la inducerea de către LPS. Au fost raportate diferenţe între răspunsurile macrofagelor de rozătoare de la diferite tipuri celulare.

Hepatocitele umane, fagocitele mononucleare (incluzând macrofagele tisulare), microglia, ca şi neutrofilele, prezintă o capacitate crescută de a induce activitatea NOSi. În cele mai multe studii, stimularea macrofagelor umane cu bacterii omorâte prin căldură, LPS şi/sau cu IFN-γ, TNF-α sau GM-CSF a determinat rezultate negative rapide. În orice caz, monocitele/macrofagele umane pot produce NO în timpul stimulării cu

Scanned with OKEN Scanner

Mycobacterium avium, glicoproteina gp 120 a virusului HIV sau cu IL-4. Similar, macrofagele umane şi macrofagele de bovine răspund slab la IFN-γ.

4.6. DONORII DE NO

Donorii de NO sunt reprezentaţi de:
- nitraţii organici (de exemplu, Nitroglicerina, Isosorbide dinitrate);
- nitriţii (de exemplu, Nitrit de amil);
- compuşii nitroso – anorganici (de exemplu, Nitroprusiatul de sodiu);
- sydnoniminele (de exemplu, Molsidomine);
- S-nitrosotiolii (de exemplu, S-nitrosoglutation/GSNO).

NO administrat în concentraţii mari şi pentru intervale lungi de timp poate determina concentraţii crescute ale GMPc, capabile să activeze procesele GMPc-dependente. Activarea kinazelor AMPc-dependente de către GMPc a fost demonstrată, de exemplu, pentru procesul de inhibare a proliferării miocitelor *in vitro* [Cornwell T.L. şi colab., 1994, citaţi bibl. 165].

Donorii de NO, cum ar fi, de exemplu, Isosorbide dinitrate, pot exercita, aşa cum s-a menţionat, de altfel, mai sus, efecte anticanceroase şi antimetastatice [Pipili-Synetos E. Şi colab., 1995, citaţi bibl. 273].

4.7. INHIBITORII DE NO

Datele din literatura de specialitate demonstrează că sinteza de NO, pe calea NOSi este implicată în patogenia unor boli inflamatorii, cum ar fi, de exemplu, artrita reumatoidă, afectând funcţia limfocitelor [247].

Teste *in vitro* demonstrează că nivelurile crescute de NO inhibă răspunsul mitogenic al celulelor splenice la con A. Răspunsul este restabilit prin administrarea de inhibitori de NOS, şi anume: bromura de S-(2-aminoetil) isotiouronium (***ITU***), aminoguanidină (***AG***) şi ester de LN^G-nitroarginină-metil (LN^G-nitroarginine methyl ester: ***L-NAME***). Ulterior, s-a constatat că aceşti inhibitori de NOS, dependent de doză, prezintă şi efecte antiartritice [247].

ITU este cel mai eficient în realizarea acestui efect, iar L-NAME are acţiunea cea mai slabă dintre cei trei inhibitori de NOS. S-a demonstrat, de asemenea, că stimularea cu *Mycobacterium tuberculosis* a LyT splenice purificate, recoltate de la şobolani imunizaţi cu adjuvanţi, conduce la creşterea răspunsului lor proliferativ, iar tratamentul cu L-NAME a condus la o scădere a proliferării antigen-induse. Aceste rezultate conduc la ipoteza că proliferarea antigen-specifică a LyT poate fi reglată de NO [Ialenti şi colab., 1993, citaţi bibl. 247]. Aceste rezultate se opun, însă, celor

Scanned with OKEN Scanner

menţionate anterior de S. Tanaka şi colab. [247]. Contradicţiile pot fi datorate condiţiilor diferite de experimentare. Astfel, excesul de NO, sintetizat de macrofage, monocite şi PMN, poate determina supresia proliferării celulelor splenice. În experimentele care utilizează celule aderente pe plăci de plastic, celulele aderente, cum ar fi, macrofagele şi neutrofilele, ar putea constitui o sursă majoră de producere a NO, fără a putea face o clasificare clară în acest sens, în celule producătoare şi celule neproducătoare de NO, în cadrul populaţiei de celule aderente. Utilizând fracţionarea pe coloane „Nylon wool", s-a demonstrat că celulele non-T produc supresia proliferării con A-induse a LyT, prin creşterea sintezei de NO. În plus, proliferarea con A-indusă a fracţiei celulelor T este crescută, fără a fi afectată de ITU.

NO induce proliferarea celulelor cu posibilitatea de a produce citokine imunosupresoare cum ar fi, IL-10, care pot fi implicate în patogenia unor afecţiuni cu modificări ale LyT. Ca o consecinţă a acestor aspecte, supresia mediată de NO asupra proliferării LyT poate conduce la o reglare aberantă de către LyT a reacţiilor inflamatorii. Astfel, inhibarea selectivă a NOSi poate realiza un beneficiu terapeutic, restaurând procesele reglatorii mediate de subpopulaţiile de LyT.

Un număr mare de mediatori ai inflamaţiei, cum ar fi, TNF-α, TGF-β, GM-CSF, PG şi H_2O_2, care sunt eliberaţi, în special, de macrofage, pot fi implicaţi în inhibarea proliferării celulelor splenice. În plus, efectul citotoxic direct al NO şi al metaboliţilor săi ar putea, de asemenea, influenţa asupra expresiei acestor factori, prin reglarea genică. NF-kB şi AP-1 sunt factori de transcripţie importanţi implicaţi în exprimarea mediatorilor inflamaţiei şi pot fi activaţi şi/sau inactivaţi de NO [Lander H.M.şi colab., 1993; Peng H.B. şi colab., 1995; Tabuchi A şi colab., 1994, citaţi bibl. 165, 247]. Activarea lor este parţial dependentă de starea redox a celulelor. NO poate fi „scavenger" pentru radicalul superoxid şi, în anumite condiţii, acţionează ca un donor de electroni sau ca antioxidant [Stamler J.S. şi colab., 1992, citaţi bibl. 165, 247].

De asemenea, s-a raportat că NO poate inactiva una dintre enzimele antioxidative, glutation-peroxidaza şi afectează sistemele antioxidative [Asahi M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 165, 247]. Nitrarea tirozinică, produsă de peroxinitrit, poate afecta starea de fosforilare a moleculelor care transmit semnalul biologic postreceptor, intracelular [Asahi M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 165, 247]. Astfel, cantitatea şi faza sintezei de NO pot fi esenţiale în determinarea activării acestor reglatori transcripţionali.

Scanned with OKEN Scanner

În celulele splenice ale şobolanilor cu artrită, inhibarea NOS poate reduce efectele deteriorative ale NO pe limfocite, în mod direct sau indirect.

Inhibitorii de NOSi pot reduce anomaliile mediate de NO pe funcţiile limfocitelor, ca în cazul artritelor induse experimental cu adjuvanţi, iar acest aspect poate contribui parţial la efectele antiartritice. Sunt, însă, necesare studii care să clarifice în continuare rolul NO asupra reglatorilor transcripţionali [247].

Potenţialul antiartritic al acestor inhibitori se pare că reflectă potenţa lor de inhibare *in vitro* a NOSi. ITU şi AG au blocat dezvoltarea artritei dependent de doză [247].

L-NAME şi-a demonstrat efectul antiartritic prin reducerea edemului labei de şobolan, în fazele precoce ale procesului, dar acest efect este diminuat în ziua a 18-a. Supresia maximă a artritei de către ITU şi AG poate ajunge la 50 % [247]. S-a demonstrat experimental că 50 mg ITU/kg corp determină o concentraţie plasmatică de peste 127 micromoli după o oră şi la acest nivel poate inhiba suficient activitatea NOSi *in vivo*. Concentraţia ITU scade la 3 micromoli după 5 ore. Efectul antiartritic al ITU poate fi explicat parţial prin această proprietate farmacocinetică. Pentru obţinerea efectului antiartritic şi al efectului terapeutic maxim al ITU, au fost necesare mai multe administrări ale compusului. O altă posibilitate ar fi aceea că sinteza excesivă de NO poate numai parţial să contribuie la realizarea aspectelor multiple fiziopatologice ale artritei.

Este deosebit de importantă selectivitatea inhibitorilor NOS. Inhibitorii NOS cresc valorile presiunii sanguine, iar nivelul hipertensiunii arteriale se pare că este dependent de gradul selectivităţii inhibitorilor NOSi. S-a determinat selectivitatea inhibitorilor de NOS, pentru izoformele NOSi şi NOSc.

Antagoniştii calmodulinei (calcineurina, calmidazolul) inhibă numai NOSc. Albastrul de metilen blochează efectul NO, inhibând guanilat-ciclaza şi, deci, formarea GMPc, mesagerul secund al NO.

Fosforilarea NOS, de către proteinkinaza C (PKC), inhibă activitatea acestei enzime în neuroni şi în celulele endoteliale; astfel, esterul tetradecanoil-forbol-acetat, care stimulează activitatea PKC, blochează producţia de NO [Şerban M.G., 1997, citat bibl. 165].

N^{ω}-monometil-L-arginina (***L-NMMA***) inhibă NOS pe calea L-arginină/NO, astfel: NOSn = NOSe > NOSi.

N^{ω}-nitro-L-arginina (***L-NA***) inhibă NOSn = NOSe >> NOSi.

N^{ω}-amino-L-arginina (***L-NAA***) inhibă NOSn = NOSi >NOSe.

5-nitroindazol (***7-NI***) inhibă NOSn = NOSe = NOSi.

N-$^{\delta}$iminoetil-L-ornitina (***L-NIO***) inhibă NOSi >NOSe = NOSn.

Scanned with OKEN Scanner

S-etil-isotio-ureea, S-metil-isotio-ureea, S-aminoetil-isotio-ureea, 2-imino-piperidina, 2-amino-piridina şi butiramidina inhibă NOSi > NOSe, iar AG inhibă NOSi > NOSe = NOSn.

Administrarea de ITU şi AG nu produce creşterea valorilor presiunii arteriale, tot atât de mult ca administrarea de L-NAME, sugerând că aceşti doi inhibitori de NOS sunt mai selectivi pentru NOSi, decât pentru NOSe *in vivo* [247].

Uşoara creştere a tensiunii arteriale după administrarea de ITU şi AGE indică faptul că selectivitatea acestor inhibitori pentru NOSi nu este suficient de mare pentru o aplicaţie terapeutică.

Potenţele inhibitorii ale L-NAME şi ale AG asupra NOSi au avut valori similare *in vitro*. Efectele antiartritice ale L-NAME la 30 mg/kg corp şi ale AG la 20 mg/kg corp au fost diferite în zilele a 15-a – a 18-a. Aceste diferenţe pot conduce la o mărire a diferenţelor deja existente în ceeea ce priveşte selectivitatea lor pentru NOSi. L-NAME este un inhibitor neselectiv şi inhibă în egală măsură NOSi şi NOSe [Rees D.D. şi colab., 1990, citaţi bibl. 247]. Deci, sinteza excesivă de NO de către NOSi nu poate fi inhibată suficient de L-NAME. Aceasta poate explica efectul slab antiartritic al N-NAME. În plus, pentru a explica aceste diferenţe în legătură cu eficienţa antiartritică, trebuie luate în consideraţie şi proprietăţile farmacocinetice ale inhibitorilor de NOS.

De asemenea, NO poate creşte expresia altor factor inflamatori, cum ar fi, IL-8 şi PGE_2 [Villarete L.H. şi colab., 1995; Tetsuka T. Şi colab., 1996, citaţi bibl. 247]. Pe de altă parte, există date experimentale care afirmă că IL-8 inhibă inducerea NOSi [Mc Call T.B. şi colab., 1992, citaţi bibl. 247]. Un nivel crescut de NO, sintetizat în stadiile precoce ale unei afecţiuni inflamatorii, ar putea influenţa producţia altor mediatori inflamatorii, care ar putea conduce la cronicizarea afecţiunii inflamatorii respective. De asemenea, s-a raportat că NO este un puternic factor distructiv ale articulaţiilor şi al osului. NO suprimă producţia matricei proteice extracelulare, activează matricea metaloproteazelor şi inactivează osteoblaştii [Trachtman H. Şi colab., 1995; Murrell G.A. şi colab., 1995; Hukkanen M. şi colab., 1995, citaţi bibl. 247]. NO reacţionează, de asemenea, cu superoxidul, rezultând un radical puternic reactiv, peroxinitritul.

Peroxinitritul induce necroza şi/sau apoptoza în multe tipuri celulare [Lin K.T. şi colab., 1995, citaţi bibl. 247]. Observaţia că NOSi este indusă în edemul artritic produs experimental la şobolan sugerează că, atât cronicitatea, cât şi distrucţia articulaţiilor, se pot realiza parţial şi ca o consecinţă a sintezei excesive de NO.

Scanned with OKEN Scanner

Situaţia curentă a tratamentului disponibil pentru artrita reumatoidă nu este satisfăcătoare. GCS se numără printre puţinele medicamente eficiente în inhibarea expresiei NOSi [Rosa M.D. şi colab., 1990, citaţi bibl. 247]. Metotrexatul inhibă activitatea NOSi în diferite ţesuturi, fenomen ce poate explica parţial efectul antiinflamator al Metotrexatului [165]. Atât GCS, cât şi Metotrexatul produc, însă, numeroase efecte adverse. Inhibarea NOSi de către GCS poate constitui un suport pentru posibilitatea utilizării inhibitorilor de NOSi în tratamentul artritei reumatoide. Inhibarea selectivă a NOSi poate fi eficientă în „restaurarea" anomaliilor imunologice, ca şi în prevenirea distrugerii articulaţiilor în artrita reumatoidă.

Inhibitorii flavoproteinelor inhibă ireversibil NOSe şi NOSi, probabil, datorită competiţiei între aceşti compuşi şi FAD şi NADPH, pentru legarea de NOS.

Unii inhibitori ai NOS , N^G – N^G – dimetil – L-arginina (***L-ADMA***) şi N^{ω}-monometil – L-arginina sunt prezenţi în plasma şi urina umană [Vallance şi colab., 1992, citaţi bibl. 165], acumularea lor în plasmă putând fi implicată în anumite stări fiziopatologice. În plus, există numeroşi analogi ai L-argininei, care acţionează ca inhibitori competitivi (uneori, chiar ireversibili) ai NOSc şi NOSi. Au fost identificaţi şi compuşi nonpeptidici care mimează jumătatea guanidinică a L-argininei şi inhibă NOS [165].

Există situaţii clinice în care *inhibarea producţiei de NO este de dorit*:

- inhibarea NOSc ar fi utilă în ischemia cerebrală sau în epilepsie, afecţiuni în care supraproducţia de NO, de către NOSn, poate conduce la neurotoxicitate;
- inhibarea NOSi ar fi necesară în şocul septic sau în unele procese inflamatorii.

Inhibitorii NOS obţinuţi până în prezent nu sunt suficient de selectivi, inhibând atât forma constitutivă, cât şi pe cea inductibilă, în proporţii variabile.

S-a constatat, de asemenea, o producţie crescută de NO în bolile imune mediate de complexe AG-AC. Astfel, glomerulonefritele induse experimental se caracterizează prin concentraţii ridicate ale NOSi la nivelul mononuclearelor intraglomerulare, interstiţiale şi la nivelul celor infiltrate în capsula Bowman. Inhibiţia expresiei NOSi se va asocia cu efecte benefice la nivelul leziunilor produse de complexele imune, dar exacerbează tromboza glomerulară [Shultz P.J. şi Raij L., 1992, citaţi bibl. 165].

Inhibitori de NOSi reduc semnificativ proteinuria şi inhibă dezvoltarea leziunilor tisulare la nivel renal şi articular, în nefrita din LES, indus experimental. De asemenea, aceşti compuşi reduc leziunile

Scanned with OKEN Scanner

mezangiale şi proteinuria în glomerulonefrita mezangio-proliferativă acută indusă experimental [Ketteler şi Distler, 1996, citaţi bibl. 165]. Toate aceste efecte nu sunt corelate cu reducerea infiltratului macrofagic, ceea ce sugerează un mecanism posibil neasociat cu inflamaţia, ci cu un răspuns imunologic.

Pe de altă parte, în nefritele acute toxice, administrarea de inhibitori de NOSi determină creşterea proteinuriei şi accentuarea alterărilor glomerulare hemodinamice, relevând efectele protectoare ale NO asupra microcirculaţiei renale [Pfeilschiffer, 1993, citat bibl. 165].

Inhibitorii de NOSi au efecte benefice şi în unele modele experimentale, ca: nefrectomia subtotală, toxicitatea ciclosporinică, trombozele glomerulare, obstrucţia ureterală, hipertensiunea arterială glomerulară [Beckman J.S. şi colab., 1990; citat bibl., 165]. Chiar şi la şoarecii normali, inhibiţia cronică a producţiei de NO determină hipertensiune arterială şi leziuni glomerulare [165].

Se poate sugera o ipoteză cu importanţă practică, şi anume: *inhibitorii de NOSi produc efecte benefice în bolile renale cu componentă imunologică umorală şi în procesele lezionale dependente de infiltratul macrofagic*, în timp ce a*dministrarea de NO e benefică* în situaţii ce afectează circulaţia glomerulară renală în cazul bolilor reumatismale cu importantă componentă imunologică celulară [165].

În **concluzie**, NO este indubitabil un modulator foarte important al RI. Stigmatizate de numeroase date conflictuale, mecanismele prin care NO intervine în apărarea gazdei sunt încă slab studiate. Capacitatea celulelor organismului de a produce NO, precum şi inducerea exogenă a acestei producţii, trebuie interpretate cu multă grijă, deoarece ele prezintă un risc potenţial pentru pacient. S-a demonstrat că o creştere a producţiei de NO nu reflectă neapărat activitatea NOSi, dar poate conduce la creşterea izoformelor NOSc (de exemplu, NOSe şi NOSn). În variatele efecte ale NO sunt implicaţi factori multipli. Confuzia în cercetările NO se poate realiza şi în urma unui transfer inadecvat al datelor din experimentele *in vitro* la condiţiile *in vivo*. NO ar putea fi considerat o „unealtă raţională" a strategiilor imunofarmacologice, necesitând şi în acest scop cercetări mult mai ample în viitor.

Scanned with OKEN Scanner

5. MEDICAMENTELE SEDATIVE-HIPNOTICE

• *BENZODIAZEPINELE*

Date experimentale sugerează că există receptori pentru benzodiazepine pe macrofage [22, 80, 148]. Benzodiazepinele stimulează activarea macrofagelor şi producţia lor de IL-1. Prin acţiune asupra SNC, IL-1 produce somnolenţă [148].

De asemenea, date din literatura de specialitate demonstrează că benzodiazepinele periferice (Ro 5-4864 şi PK 11195), centrale (Clonazepam) şi mixte (Diazepam, dar nu şi Flunitrazepam) inhibă activitatea celulelor NK. După 24 de ore, efectul de mai sus se menţine numai pentru benzodiazepinele periferice şi mixte. Această supresie semnificativă statistic a activităţii celulelor NK poate fi complet antagonizată prin administrarea de IL-2 recombinantă umană sau cu interferon leucocitar uman [22].

Receptorii pentru benzodiazepine sunt localizaţi la nivel central (în creier, CBR), unde sunt cuplaţi la canalul de Cl^- [Costa E. şi Guidotti, 1979; citaţi bibl. 22] şi, de asemenea, periferic (PBR), cu o densitate crescută în organele periferice, dar şi în celulele gliale cerebrale [Gavish M., şi colab., 1993; citaţi bibl. 22].

Tipul PBR mediază transportul mitocondrial al colesterolului şi joacă un rol major în sintezele de steroizi [Krueger K.E. şi Papadopoulos V., 1990; citaţi bibl. 22].

Tipul PBR leagă cu o afinitate crescută compusul Ro 5-4864 (4'-clorodiazepam) şi compusul PK 11195 (un derivat isochinolin - carboxamidic), dar nu leagă Clonazepamul (agonist al tipului CBR) şi nici Flumazenilul (antagonist al tipului CBR).

Sunt cunoscute modificările hormonale din timpul stresului [Gavish M. şi colab., 1993; citaţi bibl. 22], iar prezenţa receptorilor benzodiazepinici pe celulele limfoide circulante şi pe macrofage [Wang J.K.T. şi colab., 1981; Moingeon P. şi colab., 1983; Lenfant Z.M. şi colab., 1985; Benavides J. şi colab., 1990; citaţi bibl. 22] indică implicarea benzodiazepinelor în reglarea sistemului imun [Pawlikowski M., 1993; Ramseier H., şi colab., 1993; citaţi bibl. 22].

Liganzi pentru PBR stimulează chemotaxia monocitelor umane [Ruff M.R. şi colab., 1985; Sacersote P, şi colab., 1993; citaţi bibl. 22]. S-a demonstrat experimental că aceşti compuşi inhibă metabolismul oxidativ al fagocitelor de şoarece, precum şi producţia de IL-1, TNF şi IL-6 [Zavala F. şi colab., 1990; citaţi bibl. 22]. În plus, unele date experimentale arată că proliferarea celulelor limfoide este stimulată de concentraţii nanomolare ale

Scanned with OKEN Scanner

linganzilor pentru PBR şi este inhibată de concentraţii micromolare ale acestora [Pawlikowski M., 1993; citaţi bibl. 22].

Datele experimentale demonstrează acţiunea imunosupresoare a linganzilor pentru receptorii benzodiazepinici periferici, dar nu şi pentru liganzii receptorilor benzodiazepinici centrali. Această acţiune constă în deprimarea proliferării mitogen induse a celulelor NK, scăderea producţiei de IL-2 şi scăderea secreţiei de citokine cu activitate IL-3-like.

În supresia activităţii celulelor NK de către agoniştii receptorilor benzodiazepinici sunt implicate două mecanisme:

a) un mecanism nespecific, realizat în stadiile precoce, constând în interferarea, fie cu recunoaşterea celulelor ţintă, fie cu legarea la receptorii celulelor ţintă;
b) un mecanism specific (realizat tardiv, după o perioadă de latenţă mare), care implică PBR de pe celulele mononucleare circulante.

Inhibiţia produsă asupra activităţii celulelor NK nu este completă, sugerând că agoniştii receptorilor PBR se pot lega numai de un anumit subset al celulelor NK (receptorii PBR ai acestor celule fiind heterogeni atât ca fenotip, cât şi ca funcţie). S-au realizat antagonişti selectivi ai receptorilor PBR: compusul notat cu numele de cod PK 11195 [Le Fur şi colab., 1983; Shany şi colab., 1994; citaţi bibl. 22].

Se consideră că rolul lor asupra activităţii celulelor NK de distrugere a celulelor tumorale şi a celulelor infectate viral este mediat prin citokine, dar şi prin factori care asigură interacţiunea între celulele SI şi celulele care nu aparţin SI [Trinchieri, 1989; Perussia, 1991; citaţi bibl. 22].

Studii recente au demonstrat că pacienţii trataţi cu doze mari de Diazepam prezintă concentraţii serice micromolare ale medicamentului [De Vane, 1990; citaţi bibl. 22], datorită legării puternice a compusului de proteinele de transport ale plasmei. Semnificaţia clinică a efectelor *in vitro* ale agoniştilor receptorilor benzodiazepinici asupra activităţii celulelor NK rămâne, astfel, neclar.

Date experimentale demonstrează, de asemenea, că unii agonişti ai receptorilor benzodiazepinici, la concentraţiile micromolare, pot interacţiona cu receptorii PAF [Kornecki şi colab., 1984; citaţi bibl. 22] şi că PAF poate stimula secreţia de IL-2 [Rola - Pleszczyski şi colab., 1988; citaţi bibl. 22]. Nu este clarificat efectul implicării PAF în creşterea activităţii celulelor NK după o creştere a IL-2. Este posibil ca IL-2 sau IFN-γ să moduleze expresia PBR pe celulele NK.

Atât IL-2, cât şi IFN modulează funcţiile celulelor NK, aparent pe căi diferite. Activarea IL-2 rezultă din exprimarea lanţului β pe receptorii

Scanned with OKEN Scanner

pentru IL-2 de pe celulele NK. După stimularea cu IL-2, celulele NK sunt capabile să producă IFNγ [Shiibaa şi colab., 1984; Wilkinson şi Morris, 1984; Herberman şi colab., 1984; citaţi bibl. 22]. Este posibil ca IFNγ să joace un rol important în creşterea activităţii citolitice induse de IL-2 [Ausielloet şi colab., 1981; Ortaldo şi colab., 1984 ; citaţi bibl. 22], deşi s-a observat şi o creştere a citolizei IL-2-induse, independentă de IFN [Sverdersky şi colab., 1984; Trinchieri şi colab., 1984; Van de Griend şi colab., 1985; citaţi bibl. 22]. S-au demonstrat, de asemenea, variate tipuri de IFN cu efecte asupra activităţii citolitice a celulelor NK, mediate prin receptori membranari diferiţi [Branca şi Baglioni, 1982; citaţi bibl. 22].

Supresia activităţii celulelor NK poate fi cel puţin parţial atribuită inhibării producţiei de IL-2 de către agoniştii PBR [Bessler şi colab., 1992; citaţi bibl. 22]. Rămâne de evaluat gradul de antagonizare al acestui efect al agoniştilor PBR asupra activităţii celulelor NK, de către IFNα, IFNβ sau IFNγ.

Alternativ, refacerea activităţii celulelor NK de către citokine poate indica faptul că imunomodularea este un efect indirect al agoniştilor PBR asupra funcţiei limfocitelor T, cum ar fi o scădere a producţiei de citokine sau o inhibare metabolică nespecifică a celulelor imunocompetente.

6. Analgezicele opioide [35, 148, 159, 174, 211, 241, 254]

• ***MORFINA, Heroina Şi Metadona***

Încă din 1898, Ion Cantacuzino menţiona în lucrările sale posibilitatea inhibării fagocitozei sub acţiunea **opiului** [174, 211]. Studiile experimentale şi observaţiile clinice ulterioare au confirmat aceste date [174]. De asemenea, datele respective sunt argumentate şi de faptul că persoanele care consumă cronic opiacee – în scopuri nemedicale – prezintă o rezistenţă semnificativ scăzută la infecţii. Totodată s-a constatat o alterare a funcţiilor imune datorate stresului [Cannon W.B., 1935; citat bibl. 174, 211] şi anume, existenţa unei relaţii între stresul acut şi imunosupresie şi stresul cronic şi imunostimulare.

Efectele imunomodulatoare ale opiopeptidelor şi ale opiaceelor exogene sunt duale (imunosupresie/imunostimulare) şi dependente de doză şi de durata administrării, fiind mediate de receptorii opioizi ai celulelor SI [174, 211]. Asfel, s-a constatat că agoniştii receptorilor opioizi δ pot induce proliferarea celulelor mononucleare din sângele periferic uman, chiar în absenţa Ag sau a mitogenului stimulator. Unii autori descriu chiar un efect bifazic al Morfinei asupra proliferării mononuclearelor [Pacifici R. şi colab., 1994; citaţi bibl. 174, 211]. *In vivo,* Morfina (agonist cu afinitate puternică

Scanned with OKEN Scanner

pe receptorii opioizi μ şi cu afinitate slabă pe receptorii δ şi k), dar nu şi Metadona (care este numai un agonist cu afinitate puternică pe receptorii μ, fără a acţiona pe receptorii δ şi k), produce o rapidă stimulare a acestui parametru, urmată de deprimarea s-a la 24 de ore după administrarea opiaceului la şoareci. Răspunsul proliferativ al mononuclearelor după administrarea de Morfină este influenţat, de asemenea, de doza administrată, de tipul testării *(in vivo/in vitro)* şi de specia donorului pentru culturile celulare. În mod similar, s-a raportat o creştere la doze mici şi o scădere la doze mari, a proliferării PHA-induse a celulelor mononucleare din sângele periferic uman, sub acţiunea glicil-L-glutaminei (dipeptid"C"-terminal al β-endorfinei) [Mc Cain H.W. şi colab., 1987; citaţi bibl.174, 211].

Pe de altă parte, Morfina prezintă efecte inhibitorii asupra **proliferării mitogen-induse a limfocitelor splenice** precum şi a limfocitelor din sângele periferic.

Morfina, Heroina şi Metadona scad producţia de IL-2 şi IFNγ, precum şi numărul LyTc şi al celulelor NK [148].

S-a demonstrat experimental, că, după 11 săptămâni de administrare a Morfinei, se produce o scădere a greutăţii timusului şi o scădere a numărului total de timocite, precum şi a numărului de limfocite T din subseturile CD4+ şi CD8+ [Lopez şi colab., 1993; citaţi bibl. 241].

De asemenea, Morfina şi alţi agonişti ai receptorilor opioizi μ şi δ inhibă **chemotaxia celulelor mononucleare din sângele periferic**, efect antagonizat de Naloxon (antagonist al receptorilor opioizi μ, δ şi k). În schimb, agoniştii opiacei ai receptorilor μ şi δ determină creşterea mobilităţii LyT, efect care este inhibat de Naloxon. Tratamentul cu Metadonă şi abuzul de Heroină (Morfina fiind un metabolit activ al Heroinei) scad chemotaxia granulocitelor. Se constată, în aceste situaţii, o creştere în paralel a numărului de receptori opioizi la suprafaţa membranei granulocitului.

Ambele tipuri de efecte (pozitiv/negativ) ale alcaloizilor din opiu asupra chemotaxiei diferitelor populaţii celulare sunt mediate de receptorii opioizi ai celulelor SI [174, 211]

Alcaloizii din opiu, precum şi opiopeptidele şi condiţiile de stres produc efecte modulatoare duale asupra **celulelor NK** [174, 211]. Aceste efecte depind de tipul de celule NK (celule NK splenice, celule NK din cavitatea peritoneală şi celule NK pulmonare) [254], precum şi de doza administrată [174, 211].

S-au demonstrat experimental, la şobolani Wistar, efectele administrării cronice, pe cale orală (în alimente), ale Morfinei şi ale

Scanned with OKEN Scanner

Metadonei, asupra activităţii celulelor NK în splină, cavitatea peritoneală şi plămâni [254]. Morfina a determinat scăderea semnificativă a numărului celulelor NK splenice şi a indus deprimarea activităţii lor citotoxice, indiferent de doza administrată (0,25g/kg c/zi, 6 săptămâni, respectiv, 0,25g/kg c/zi, în prima săptămână şi 0,5g/kg c/zi, în săptămânile a doua - a şasea), nu a influenţat semnificativ numărul celulelor NK din cavitatea peritoneală, dar a determinat stimularea semnificativă statistic a activităţii lor citotoxice (de asemenea, independent de doza administrată). La nivelul plămânilor, Morfina a produs o creştere (dar nesemnificativă) a numărului de celule NK; activitatea acestora nu a fost influenţată la animalele tratate cu doza de 0,25 g/kg corp/zi, timp de 6 săptămâni, dar a fost stimulată la animalele care au primit doza de 0,5 g/kg corp/zi, în săptămânile a doua - a şasea [254].

Metadona a determinat reducerea (dar, nesemnificativă a) numărului celulelor NK splenice, la doza de 0,4 g/kg corp/zi, în săptămânile a doua - a şasea, nu a influenţat activitatea acestora la doza de 0,2 g/kg corp/zi, dar a determinat scăderea semnificativă a efectelor lor citotoxice la doza mare de 0,2g/kg c/zi. Metadona a determinat reducerea, dependentă de doză, a numărului celulelor NK şi a indus deprimarea activităţii lor citotoxice, independent de doză. La nivelul plămânilor a produs efecte inhibitorii dependente de doză, atât asupra numărului cât şi asupra activităţii citotoxice a celulelor NK.

Tratamentul subcronic cu Morfină (0,25-0,5 g/Kg corp/zi) sau cu Metadonă (0,2-0,4 g/Kg corp/zi) au determinat niveluri plasmatice ale acestor opiaţi, care au dezvoltat o dependenţă fizică la aceşti derivaţi. Ambii derivaţi au deprimat activitatea celulelor NK splenice. Morfina a stimulat activitatea celulelor NK peritoneale şi pulmonare, în timp ce Metadona a deprimat activitatea acestora. Efectele inhibitorii ale Morfinei asupra celulelor NK sunt mediate prin intermediul receptorilor opioizi de la nivelul SNC. Există o legătură funcţională între SNC şi ţesutul limfoid, realizată pe calea sistemului nervos simpatic, prin inhibarea opioid-indusă a căilor noradrenergice, cu inhibarea consecutivă a SI. Efectele inhibitorii ale Metadonei sunt mediate probabil, prin intermediul aceloraşi receptori opioizi de la nivelul SNC [254].

Studii realizate pe voluntari sănătoşi reflectă efecte dependente de doză şi de durata administrării, atât la Morfină, cât şi la Metadonă. Efectele Morfinei şi ale Metadonei asupra celulelor NK peritoneale sugerează ipoteza prezenţei unor receptori opioizi periferici, la nivelul acestor celule. Alternativ, Morfina şi Metadona pot influenţa migrarea acestor celule,

Scanned with OKEN Scanner

determinând efecte indirecte, asupra producţiei lor de citokine (IFN-γ, IL-2). Morfina poate determina scăderea eliberării de IL-2 şi IFNγ din limfocitele splenice, dar nu şi din ganglionii limfatici mezenterici [174, 211]. De asemenea, Morfina are efecte inhibitorii asupra eliberării de TNFα şi TNFβ.

Diferenţele găsite între efectele Metadonei şi cele ale Morfinei asupra celulelor NK din peritoneu şi din plămâni, sugerează necesitatea unor studii privind diferenţele efectelor pe SI ale abuzului de Heroină (Morfina fiind, după cum s-a menţionat deja mai sus, unul dintre metaboliţii activi ai Heroinei) şi Metadonă.

Alcaloizii din opiu influenţează, de asemenea, producţia de Ac. Astfel, Morfina inhibă secreţia de Ac şi determină creşterea nivelului de corticosteron [174, 211]. În inhibarea secreţiei de Ac, a fost observată implicarea prevalentă a receptorilor k prezenţi pe suprafaţa membranei LyT şi a macrofagelor [174, 211].

Studii experimentale demonstrează că Morfina stimulează replicarea HIV în celulele mononucleare periferice şi în celulele Kupffer, prin următoarele mecanisme [241]:

- creşte fluiditatea membranară:
- scade capacitatea de diferenţiere a monocitelor la macrofage;
- alterează producţia de anioni superoxizi;
- scade producţia de IFNα şi PGE_2;
- scade răspunsul celulelor mononucleare la IFNγ.

• ***FENTANYL*** (derivat de sinteză, agonist al receptorilor opioizi μ), administrat pe cale subcutanată la şoarece, în doze de 0,25-0,5 mg/kg corp, deprimă activitatea celulelor NK. Efectul nu se produce la doze mai mici de 0,1 mg/kg corp şi mai mari de 0,75 - 1 mg.

Un compus de sinteză, derivat de Fentanyl, 4-heteroanilido-piperidinic (notat cu numele de cod OHM 3295), având efect analgezic similar cu Fentanylul, în administrare pe cale subcutanată la şoarece, în doze de 1-32 mg/kg corp, este, în schimb, un puternic stimulator al activităţii citolitice a celulelor NK [35].

Atât acţiunea Fentanylului, cât şi a compusului OHM 3295, sunt antagonizate de antagonistul competitiv al receptorilor opioizi μ: Naltrexone [35].

• ***NALOXONUL*** stimulează activitatea celulelor NK prin intermediul creşterii producţiei de IL-2 [35].

Scanned with OKEN Scanner

7. ANESTEZICELE LOCALE

• ***Anestezicele locale*** cu structură de ester, cum ar fi ***Tetracaina*** scade capacitatea fagocitară a neutrofilelor şi macrofagelor, probabil printr-un mecanism de "dezorganizare" membranară a acestora [148].

• ***COCAINA***

Substanţă folosită în scopuri nemedicale, euforizante, ***cocaina*** prezintă următoarele efecte de tip imunomodulator [148, 264, 265]:

a. Efectele Cocainei asupra macrofagelor:

- diminuă homeostazia macrofagelor;
- scade producţia de IL-1 a macrofagelor;
- scade producţia de radicali liberi peroxid şi superoxid;
- inhibă relaţia funcţională IL-1-TNF.

b. Efectele Cocainei asupra celulelor NK:

- scade numărul şi activitatea celulelor NK (după 24 de ore de la expunere);
- efectele dispar după 6 zile de la ultima expunere.

c. Efectele Cocainei asupra limfocitelor T:

- diminuă răspunsul proliferativ al timocitelor şi limfocitelor T, indus de mitogene (con A) şi de anticorpi anti-CD 28;
- diminuă producţia de IL-2 de către limfocitele T;
- producţia de IL-2 de către limfocitele T nu este influenţată în cazul expunerii duble la Cocaină şi etanol.

d. Efectele Cocainei asupra limfocitelor B:

- stimulează răspunsul proliferativ indus de LPS sau de mitogene, acest efect fiind mai puternic la masculi, decât la femele (rozătoare);
- nu este influenţată producţia de anticorpi de tipul IgG, IgM.

Funcţiile limfocitelor B nu sunt influenţate de expunerea acută la Cocaină.

Cocaina nu afectează procentajul total al timocitelor mature (LyT CD4+, LyT CD8-, LyT CD4-, LyT CD8+), în schimb, scade numărul absolut al acestora. Are loc atât o scădere a procentajului, cât şi a numărului absolut al timocitelor imature CD4+ şi CD8+, precum şi o creştere a celulelor imature CD4- şi CD8- .

Experimental, la şoarecii trataţi cu Cocaină în doze de 40 mg/kg corp, s-a produs o scădere a exprimării CD 28 şi CD 25 pe timocitele stimulate con A. Producţia de IL-2 nu a fost semnificativ afectată, dar producţia de IFNγ a fost diminuată.

Scanned with OKEN Scanner

Efectele asupra diferenţierii timocitelor şi asupra funcţiei timocitelor mature se manifestă la doze mai mici la femelele de şoarece, faţă de masculi.

Cocaina nu afectează greutatea şi celularitatea timusului, în schimb, în asociere cu Diazinone (un inhibitor de organofosfat-esterază), determină o atrofie timică "dramatică".

Timocitele sunt mai sensibile decât splenocitele la efectele Cocainei. Metabolismul P_{450}-dependent al Cocainei joacă un rol esenţial în exercitarea efectelor supresoare ale Cocainei asupra timusului.

Tratamentul cu Cocaină produce o scădere a numărului absolut de limfocite T, LyT_{helper} şi LyT citotoxice/$LyT_{supresoare}$. Se consideră că, de fapt, Cocaina modulează sistemul imunitar, prin acţiunea asupra expresiei şi diferenţierii markerilor limfocitelor T, după interacţiunea directă cu timocitele sau, indirect, prin intermediul axei neuro-endocrino-timice.

Mecanismul molecular de realizare a efectelor Cocainei asupra timusului nu este pe deplin elucidat. S-a sugerat ipoteza reglării neurohormonale a răspunsului imun, pentru a explica efectele Cocainei asupra sistemului imunitar [Mendelson, Mello, Teoh, Ellingboie şi Cochin, 1992; Hanson, Matsuda şi Gilb, 1987; citaţi bibl. 265].

S-a constatat că *in vivo* Cocaina produce o creştere a nivelurilor plasmatice de ACTH, β-endorfină şi Corticosteron. Unul dintre cele mai importante efecte ale glucocorticosteroizilor asupra limfocitelor constă în inducerea apoptozei. Apoptoza sub acţiunea steroizilor este cea mai pronunţată în timus [Hagen, Shen şi Ou, 1994; citaţi bibl. 265] şi la celulele CD4+ şi CD8+ [Ashwell, King şi Vacchio, 1996; citaţi bibl. 265]. Diferenţa între distribuirea receptorilor pentru neurotransmiţători [Fischette, Biegon şi Mc Ewen, 1983; Miller şi colab., 1983; citaţi bibl. 265] şi hormonii sexuali [Gilbody, Wheeler, Wolstencroft şi Greenstein, 1992; Grossman, Sholiton şi Roselle, 1982; citaţi bibl. 265] pe limfocitele T [Stimson, 1988; Cohen şi colab., 1983; citaţi bibl. 265] este legată de fenotipul diferit al subsetului de limfocite T. Sexul influenţează acţiunea Cocainei asupra sistemului imunitar, atât în ceea ce priveşte efectele asupra splinei, cât şi referitor la efectele asupra timusului.

Scanned with OKEN Scanner

8. Anestezicele generale

8.1. ANESTEZICELE GENERALE CU ADMINISTRARE INTRAVENOASĂ

• ***Thiopental*** scade semnificativ proliferarea antigen indusă specific a limfocitelor şi producţia de IL-2 de către limfocitele din sângele periferic. De asemenea, scade foarte puternic producţia de IFNγ. În schimb, producţia de IL-4 nu este afectată.

Thiopental nu influenţează însă proliferarea mitogen-indusă a limfocitelor şi nici secreţia de către acestea a IL-2 [46].

8.2. ANESTEZICELE GENERALE LICHIDE VOLATILE CU ADMINISTRARE INHALATOARE

• ***Halotan-ul, Enfluran-ul şi Isofluran-ul***, scad funcţiile celulelor fagocitare, printr-un mecanism de "dezorganizare" a membranei acestora [148]. Halotan inhibă migrarea PMN şi a macrofagelor, aderarea celulă/celulă a monocitelor [Tait şi colab., 1993; citaţi bibl. 46], scade producţia de IFNα şi IFNβ [Markovic şi Murasko, 1991a, 1993; citaţi bibl. 46].

Anxietatea preoperatorie [Salmon şi Kaufman, 1990; citaţi bibl. 46], stresul intervenţiilor chirurgicale [Cabie şi colab., 1993; Galandiuk şi colab., 1993; citaţi bibl. 46] şi anestezia [Markovic şi colab., 1993; citaţi bibl. 46] mediază imunosupresia postoperatorie. Anestezicele generale cu administrare intravenoasă, precum şi cele cu administrare inhalatorie accelerează progresia imunodeficienţelor sau induc imunodeficienţe tranzitorii prin alterări tranzitorii ale răspunsului imun.

9. MEDICAMENTE UTILIZATE ÎN TERAPIA BOLILOR PSIHICE

9.1. NEUROLEPTICELE CU STRUCTURĂ FENOTIAZINICĂ ŞI CU LANŢ SECUNDAR ALIFATIC *(de tipul Clorpromazinei , Promazinei, Trifluprometazinei),* PRECUM ŞI CELE CU LANŢ SECUNDAR PIPERIDINIC *(Tioridazina, Piperacetazina, Mesoridazina*) prezintă şi efecte de tip imunomodulator: diminuă funcţiile fagocitelor, iar în administrarea cronică, pot induce fenomene autoimune de tipul LES (în special, Clorpromazina) [195].

Derivaţii fenotiazinici influenţează, de asemenea, activitatea celulelor NK, precum şi proliferarea şi funcţiile limfoblaştilor [195]. Astfel, 12H-benzofenotiazina, 5-oxo-5H-benzofenotiazina

Scanned with OKEN Scanner

9-metil-12H-benzofenotiazina şi 6-metil-5-oxo-5H-benzofenotiazina inhibă transformarea blastică a limfocitelor, dependent de doză (la doze cuprinse între 5-10 μg/ml). La doze peste 10 μg/ml, *in vitro*, cei 4 derivaţi inhibă semnificativ ADCC. De asemenea, aceşti compuşi inhibă semnificativ activitatea celulelor NK. Această acţiune a compuşilor respectivi este, însă, antagonizată de citokinele eliberate de monocite, apărând chiar o stimulare a celulelor NK, în cazul 12H-benzofenotiazinei şi al 5-oxo-5H-benzofenotiazinei. Cunoscând faptul că celulele NK joacă un rol semnificativ în realizarea funcţiilor imunologice specifice şi în reacţiile de apărare imunologică antitumorală [148], se sugerează că, dependent de doză, cele două benzofenotiazine, respectiv, 12H-benzofenotiazina şi 5-oxo-5H-benzofenotiazina, stimulează diferenţierea şi cresc activitatea prezentatoare de antigen a monocitelor.

Sunt descrise şi efecte antibacteriene ale antipsihoticelor fenotiazinice [148].

9.2. SĂRURILE DE LITIU (*CARBONATUL DE LITIU*, folosite în tratamentul tulburărilor afective bipolare, cresc numărul total de leucocite, cresc activitatea celulelor NK, stimulează funcţia citototoxică a macrofagelor, stimulează funcţia chemotactică şi citotoxică a neutrofilelor, prezintă acţiuni antivirale faţă de *Herpes simplex*, virusul pseudorabic, virusul vaccinei [93, 148].

CLORURA DE LITIU, administrată pe cale intraperitoneală, în doză de 4 mg/zi, timp de 10 săptămâni, la femele de şoarece din suşa NZB/W, a crescut rata de supravieţuire la 50 % din animalele infectate experimental cu *C. parvum*. Acest efect este dependent de doză şi de durata administrării, realizându-se printr-un mecanism molecular unic, care implică, probabil, afectarea fazei de lezare autoimună la nivelul rinichilor sau blocarea progresiei către insuficienţa renală la şoarecii NZB/W testaţi. Datele experimentale obţinute nu exclud posibilitatea unei deprimări mediate de Litiu a unui subset de anticorpi nefritogenici, menţinând, astfel, în limite normale funcţia renală la supravieţuitorii trataţi pe termen lung.

De asemenea, datele experimentale demonstrează că sărurile de Litiu stimulează eliberarea de GM-CSF şi pot potenţa procesele mediate de TNF.

Administrarea sărurilor de Litiu previne modificările inflamatorii cronice, care pot conduce la leziuni renale. Litiul menţine în limite normale, atât morfologia tubilor renali, cât şi funcţia acestora [93].

Scanned with OKEN Scanner

9.3. ANTIDEPRESIVELE de tipul ***PHENELZINEI*** prezintă efecte antivirale față de *Herpes zoster*. Ele sunt eficiente în remiterea durerii în *Herpes zoster* şi scad frecvența recurențelor [148].

Antidepresivele triciclice, cum sunt ***CLOMIPRAMINA*** şi ***IMIPRAMINA***, pot distruge "in vitro" creşterea parazitului *Giardia lamblia* [148, 262].

DESIPRAMINA inhibă creşterea plasmodiilor malariei [265].

LITIUL, PHENELZINE, TRANYLCYPROMINA, PARGYLINE, CLORPROMAZINA, DESIPRAMINA şi DOXEPIN sunt inhibitori potențiali ai sintezei de PG [148].

Principala enzimă care degradează PG este 15-hidroxiprostaglandin-dehidrogenaza. S-a demonstrat experimental că ***IMIPRAMINA şi AMITRIPTILINA*** activează această enzimă în creierul, plămânul, ficatul şi rinichiul de şoarece. De asemenea, Imipramina şi Amitriptilina au dovedit puternice efecte de activare a 15-hidroxiprostaglandin-dehidrogenazei la om.

Pe de altă parte, pentru *mecanismul patogen al unor afecțiuni psihice* au fost sugerate teorii autoimune. Astfel, este teoria autoimună privind mecanismul patogenic al schizofreniei. În schizofrenie se constată o scădere a nivelurilor LyTs şi o scădere a producției de IL-2 [148].

Imipramina, Clomipramina şi Citalopram (antidepresive triciclice) induc apoptoza limfocitelor periferice umane [Kerr şi colab., 1972; citați bibl. 262]: Clomipramina > Imipramina > Citalopram. Limfocitele T citotoxice sunt mai puternic afectate decât limfocitele T helper. Aceste antidepresive inhibă transformarea limfocitelor mature în forme blastoide [Martensson şi Nässberger, 1993; citați bibl. 148], inhibă eliberarea de IL-2 şi IFNγ [Xia şi colab., 1996; citați bibl. 148]. Se sugerează, astfel, că aceşti compuşi pot fi folosiți ca imunosupresoare în unele boli autoimune.

10. ALCOOLUL ETILIC [240]

Cercetările *in vitro* evidențiază faptul că tratamentul acut cu etanol produce o inhibare a proliferării timocitelor şi o creştere semnificativă, dependentă de doză, a producției de IL-12 de către monocitele stimulate cu IFNγ (100 U/ml) plus *Enterotoxina B stafilococică* (SEB, 1 μg/ml), precum şi o creştere a producției monocitare de IL-10 şi a producției de PGE_2, cu o scădere concomitentă a capacității prezentatoare de antigen a monocitelor [Szabo G., Verma B., Fogarasi M. şi Catalano D., 1992; Mandrekar P., Catalano D. şi Szabo G., 1996; citați bibl. 240] şi o scădere a răspunsului limfocitelor T la IL-2 [Szabo G., Verma B., Fogarasi M. şi Catalano D.,

Scanned with OKEN Scanner

1992; citaţi bibl. 240], De asemenea, în tratamentul acut cu etanol, creşterea producţiei de IL-10 contribuie la scăderea producţiei citokinelor inflamatorii (TNFα şi IL-1β), precum şi la afectarea proliferării limfocitelor T - antigen-specifice.

Dependent de doză, tratamentul acut cu etanol determină creşterea producţiei de IFNγ.

Consumul de alcool etilic este asociat, deci, cu o scădere a răspunsului imunitar celular şi cu o creştere a susceptibilităţii la infecţii [Nelson S. şi colab., 1989; Szabo G. şi colab., 1993; Jerrels T.R. şi Sibley D., 1996; citaţi bibl. 240].

De asemenea, s-a demonstrat experimental că dieta cu etanol determină o scădere a producţiei de IL-2, IL-4 şi IL-6.

11. MARIJUANA. CANABINOIZII

• ***DELTA-TETRAHIDROCANABINOL (THC),*** component major al Marijuanei, deprimă puternic funcţiile macrofagelor [43, 272].

THC inhibă dependent de doză răspunsul macrofagelor la stimularea antigen-indusă, inhibă capacitatea de fagocitoză a macrofagelor umane [Lopez - Cepero şi colab., 1991; Specter şi colab., 1991; citaţi bibl. 43].

THC inhibă producţia de molecule solubile care mediază activitatea citolitică a macrofagelor [Coffey şi colab., 1996; Fischer - Stenger şi colab., 1993; Jeon şi colab., 1996; citaţi bibl. 43], inhibă sinteza de citokine de către macrofagele activate [Fischer - Stenger şi colab., 1993; Nakano şi colab., 1992; Watzl şi colab., 1991; Zheng şi colab., 1992; citaţi bibl. 43]. THC modulează activitatea LyT_h prin interferarea procesării antigenelor solubile de către macrofage [Mc Coy şi colab., 1995; citaţi bibl. 43]; scade expresia receptorilor pentru citokinele activatoare pe suprafaţa macrofagelor.

THC scade producţia de IL-2 de către limfocitele T splenice [Nakano şi colab., 1992; Schatz şi colab., 1993; citaţi bibl. 43] şi creşte concentraţia Ca^{2+} citosolic în limfocitele T [Nakano şi colab., 1993; citaţi bibl. 43], ca răspuns la stimularea experimentală cu anticorpi anti-CD3. Mecanismele prin care THC afectează macrofagele sunt următoarele:

- scade producţia de $NO^{\cdot}$, prin interferarea cu transcripţia genei NO-sintetazei [Coffey şi colab., 1996; Jeon şi colab., 1996; citaţi bibl. 43];
- alterează maturarea precursorului TNFα şi a IL-1, blocând trecerea acestora la forme active [Fischer - Stenger şi colab., 1993; Zhu şi colab., 1994; citaţi bibl. 43];

Scanned with OKEN Scanner

- clivează proteinele glucosilfosfatidilinositol-like de la suprafaţa celulelor, prin activarea proteazelor şi a fosfolipazelor în membrana citoplasmatică [Bažil, 1995; citat bibl., 43].

THC inhibă expresia CD24, moleculă costimulatorie pentru celulele imunocompetente [Kaye şi colab., 1991; Springer, 1980; citat bibl., 43]. Expresia CD24 are un rol critic pentru activarea atât a limfocitelor T_h CD4+, cât şi a limfocitelor T_c CD8+ [Liu şi colab., 1992; De Brujin şi colab., 1996; citaţi bibl. 43] şi contribuie la inducerea LyT_c cu memorie [Liu şi colab., 1997; citaţi bibl. 43].

THC scade expresia moleculelor costimulatorii pe macrofage [Kaye şi colab., 1994; Saha şi colab., 1994; citaţi bibl. 43].

12. PSIHOTONICELE

• ***PIRACETAM*** (Pyramem®, Nootropyl®, Gabacet®, Piracetam®) este un derivat ciclizat al GABA, 2-oxi-1-pirolidin-acetamidă [148].

Influenţează sistemul imunitar prin următoarele **efecte biologice**:

- stimulează proliferarea şi diferenţierea LyT, producţia lor de citokine;
- stimulează proliferarea şi diferenţierea LyB, producţia de Ig;
- activează celulele fagocitare mononucleare.

13. ANTICONVULSIVANTELE [148]

• ***FENITOINUL***, din grupa ***hidantoinelor***, stimulează proliferarea limfoblaştilor. În administrare cronică, poate induce fenomene autoimune, cu formare de Ac anti-HLA. De asemenea, Fenitoinul administrat cronic poate induce inhibiţii medulare.

• ***TRIMETADIONA*** (Tridione®), din grupul ***oxazolidindionelor***, în administrări îndelungate, poate induce fenomene autoimune, de tipul miasteniei.

14. SISTEMUL ENDOCRIN ŞI MEDICAMENTELE CU ACŢIUNE PE SISTEMUL ENDOCRIN

Hormonii prezintă următoarele efecte asupra sistemului imunitar [37, 40, 80, 134, 148, 189, 214, 225]:

• ***Hormonii tiroidieni şi antitiroidienele de sinteză***

Hormonii tiroidieni: stimulează proliferarea timocitelor, stimulează proliferarea neutrofilelor, creşte numărul leucocitelor în sângele periferic, stimulează proliferarea şi activarea LyTh, LyTc, LyB, cresc rezistenţa antiinfecţioasă [40].

Scanned with OKEN Scanner

Cercetări experimentale *in vitro* demonstrează că ***IODOTIRONINA*** (T3), în doze mici (0,1 ppm) produce creşterea exprimării receptorilor pentru IL-2 (IL-2R) pe splenocite, în timp ce T3, în doze mari (1 ppm) deprimă numărul celulelor IL-2R pozitive. Ambele tipuri de doze produc *in vitro* o creştere a numărului de celule CD3-pozitive [40].

Este sugerată ipoteza că exprimarea receptorilor pentru IL-2 poate fi modulată *in vivo* prin suplimentarea cu T3, acest lucru conducând la obţinerea unor efecte de tipul celor produse de IL-2, cu consecinţe în reglarea activităţii sistemului imunitar.

Acest efect bifazic al iodotironinelor asupra sistemului imunitar poate rezulta din două mecanisme de acţiune distincte [40]. Pe de o parte, iodotironinele acţionează direct asupra unor receptori nucleari specifici la nivelul limfocitelor T, iar pe de altă parte, ele acţionează indirect, prin modularea producţiei altor hormoni clasici sau a unor citokine, precum şi prin modularea exprimării receptorilor pentru aceste citokine pe celulele ţintă. Efectul imunoreglator al iodotironinelor poate fi mediat prin hormonii timici. Astfel, activitatea timotropică a unor doze scăzute - medii de suplimentare cu Iodotironină nu este datorată atât de mult capacităţii acesteia de a stimula proliferarea timocitelor, cât mai ales, capacităţii de a stimula proliferarea celulelor epiteliale timice [Scheiff şi colab., 1977; citaţi bibl. 40]. Capacitatea celulelor epiteliale timice de a lega T3 a fost demonstrată relativ recent şi se realizează prin intermediul receptorilor nucleari pentru T3 ai acestor celule [Villa - Verde şi colab., 1991; citaţi bibl. 40]. Aceste date se adaugă faptului că există o strânsă corelaţie în sens pozitiv între statusul hormonilor tiroidieni şi secreţia de timulină (un hormon timic) de către celulele epiteliale timice la şoarece [Dardenne şi colab., 1988; citaţi bibl. 40], la oameni [Fabris şi colab., 1986; citaţi bibl. 40] şi la păsări [Marsh şi colab., 1990; citaţi bibl. 40].

Marsh şi Chang (1993) [citaţi bibl. 40] demonstrează un mecanism secundar prin care iodotironinele pot exercita o influenţă considerabilă asupra funcţiilor imunitare. Timulina şi alţi factori timici (timozinele, timopoetina şi factorul umoral timic) exercită un puternic rol modulator asupra dezvoltării şi funcţiei celulelor T [Safieh-Garabadien şi colab., 1992; citaţi bibl. 40]. Fracţia 5 a Timozinei (TF5) şi Timozina α1 (Tα1, o componentă activă a TF5) produc o creştere a proliferării mitogen- şi limfokin- induse a limfocitelor [Sztein şi Serrate, 1989; Hadden, 1992; Leichtling şi colab., 1990; Sztein şi colab., 1986; citaţi bibl. 40]. Acest proces este însoţit de o creştere a exprimării IL-2Rα şi de înaltă afinitate a IL-2 pentru receptorii exprimaţi IL-2Rα [Sztein şi Serrate, 1989; citaţi bibl.

Scanned with OKEN Scanner

40]. Deşi s-a arătat că Tα1 creşte producţia de IL-2, modularea exprimării IL-2R de către TF5 se pare că este un efect direct al acestui factor pe celulele sistemului imunitar şi nu un rezultat al producţiei crescute de IL-2.

• ***METHIMAZOLE (antitiroidian de sinteză)*** inhibă proliferarea periferică a limfocitelor, acţionând la nivelul fazei "S" a ciclului celular.

Inhibă producţia de autoanticorpi antitiroidieni, atât *in vitro*, cât şi *in vivo* [37].

• Un rol imunoreglator s-a demonstrat, de asemenea, pentru ***TIROTROPINĂ (TSH)*** [40].

TSH se leagă direct pe receptorii specifici de pe limfocite şi modulează răspunsul în anticorpi al rozătoarelor: răspunsul limfocitelor T, dependent şi independent de stimulii antigenici [Blalock şi colab., 1985; Kruger şi Blalock, 1986; citaţi bibl. 40]; modulează răspunsurile proliferative ale limfocitelor şi citotoxicitatea celulelor NK [Provinciali şi colab., 1992; citaţi bibl. 40]. S-a demonstrat, pe de altă parte, că există o corelaţie *in vivo* inversă între concentraţiile serice ale hormonilor tiroidieni şi TSH, care poate modula şi expresia IL-2R în prezenţa unor niveluri serice crescute de TSH.

• ***Hormonii glucocorticosteroizi***: au fost detaliaţi la capitolul "Imunosupresia".

• ***Hormonii estrogeni***: scad proliferarea timocitelor, cresc producţia de IgA şi IgG, cresc catabolismul complexelor imune, cresc rezistenţa antiinfecţioasă [214]. Pot induce fenomene autoimune de tipul lupusului eritematos sistemic [148].

Imunitatea mediată celular, imunitatea umorală, alergiile, autoimunitatea şi activitatea celulelor NK, atât la rozătoare, cât şi la oameni, sunt mult mai puţin intense la sexul masculin, faţă de sexul feminin. La sexul feminin aceste fenomene sunt corelate cu nivelurile plasmatice ale estrogenilor şi/sau cu ciclul menstrual [Blazkovec şi colab., 1973; Schnurs şi Verheul, 1990; citaţi bibl. 214]. Un exemplu semnificativ al reglării răspunsurilor imune prin intermediul steroizilor sexuali este reprezentat de inhibarea, dependentă de doză, a activităţii limfocitelor T supresoare/citotoxice de către estrogeni [Mc Kenzie şi Bergzi, 1987; Sakai şi colab., 1995; citaţi bibl. 214]. Un alt exemplu îl constituie scurtarea, prin ovarectomie experimentală a timpului necesar pentru rejetul grefei de piele la şoareci femele [Graff şi colab., 1969; citaţi bibl. 214]. Aceste exemple sugerează în mod clar faptul că răspunsurile imune mediate celular sunt dependente de funcţia gonadelor. Deci, în bolile autoimune, cum ar fi LES, steroizii sexuali pot determina, dependent de doză, atât inhibarea, cât şi

Scanned with OKEN Scanner

accelerarea bolii la om [Inman, 1979; Wilson şi colab., 1996; citaţi bibl. 214].

Xenobioticele estrogenice inhibă răspunsul la mitogene al limfocitelor T. Derivaţii din plante cu structură estrogenică, precum şi insecticidele cu structură steroidiană prezintă acest efect în grade diferite. Aceste substanţe nu pot fi privite ca factor de risc pentru bolile imunitare în timpul vieţii obişnuite a organismelor sănătoase, dar pot altera răspunsurile imunitare în anumite situaţii fiziopatologice [214].

- ***Progesteronul***: stimulează activitatea LyTs [148].
- ***Testosteronul***: scade proliferarea timocitelor, creşte numărul total de leucocite în sângele periferic, stimulează funcţiile LyTs, stimulează producţia de IL-2, stimulează producţia proteinei C reactive, creşte catabolismul complexelor imune. Poate induce fenomene "autoimune", de tipul lupusului eritematos sistemic, anemiei hemolitice autoimune, spondilitei anchilozante. Steroizii androgeni anabolizanţi, de tipul Nandrolone decanoate şi Oxymethenelone, induc producţia de IL-1beta şi TNF şi inhibă producţia de IFN şi corticotropină [148].

Testosteronul şi derivaţii săi (***DIHIDROTESTOSTERON şi DEHIDROEPIANDROSTERON)*** exercită un control considerabil asupra producţiei de IL-2 şi IL-4, prin afectarea profilului citokinelor, care, în mod specific favorizează răspunsul celulelor T CD4 [Araneo şi colab., 1991; citaţi bibl. 40].

- ***Oxitocina:*** activează proliferarea limfocitelor T [148].
- ***Vasopresina:*** activează proliferarea limfocitelor T [148].
- ***ACTH***: scade producţia de Ig, scade producţia de limfokine, inhibă diferenţierea LyB, inhibă chemotaxia neutrofilelor, în funcţie de concentraţie/doză, determină activarea/supresia producerii de citokine, a funcţiilor celulelor NK, a sintezei de anticorpi şi a funcţiei macrofagelor [148, 225].

ACTH blochează producţia de IFNγ de către celulele splenice, reduce *in vitro* răspunsul în anticorpi al limfocitelor T dependent şi independent de stimulii antigenici [225].

- ***Prolactina:*** activează macrofagele, stimulează producerea de IL-2 de către LyT, stimulează în mod direct exprimarea IL-2 R [Mukherjee şi colab., 1990; citaţi bibl. 40] şi se pare că, în mod direct sau prin intermediul axei hipotalamo-pituitare, acest hormon este un factor necesar pentru inducerea proliferării limfocitelor [40].

S-a demonstrat experimental că Prolactina stimulează *in vitro* producţia de oxid nitric şi de IL-1 de către macrofagele peritoneale de

Scanned with OKEN Scanner

şoarece. Producţia de oxid nitric scade în cazul macrofagelor tratate cu Prolactină şi cu Nifedipină (un blocant de canale de Ca^{2+}), indicând rolul Ca^{2+} în activarea macrofagelor de către Prolactină. În cazul macrofagelor tratate cu Prolactină, este stimulată translocarea protein-kinazei C (PKC) din citosol la nivelul membranei, ceea ce indică faptul că Prolactina activează macrofagele prin stimularea PKC [134].

• ***Hormonul de creştere:*** stimulează sinteza de anticorpi, inhibă diferenţierea LyB, activează macrofagele, inhibă chemotaxia neutrofilelor [148].

• ***Somatostatina:*** suprimă răspunsul limfoblaştilor la mitogeni, suprimă sinteza de Ig [148].

• ***Insulina***: stimulează LyTc, stimulează proliferarea şi diferenţierea de LyB, creşte rezistenţa antiinfecţioasă [148].

• ***Glucagonul*:** scade numărul total al leucocitelor din sângele periferic, scade funcţia LyTh, scade producţia MIF, creşte numărul neutrofilelor, scade activitatea fagocitară a PMN, inhibă oncogeneza [148].

• ***Parathormonul***: creşte numărul PMN circulante [148].

• ***Melatonina***: prezintă efect bifazic pe celulele NK (precoce stimulator şi tardiv inhibitor) [148].

Rolul Melatoninei în cadrul interacţiunilor SN-SE-SI este detaliat în capitolul V.9.

15. VITAMINELE [2, 15, 16, 19, 20, 29, 33, 38, 45, 56, 71, 80, 91, 92, 95, 98, 148, 155, 170, 188, 186, 189, 193, 197, 220, 252]

15.1. VITAMINA B1 *(Tiamina) [33]*

Deficitul în vitamina B1 este asociat cu scăderea rezistenţei faţă de infecţii. Pacienţii cu SIDA prezintă un risc crescut pentru instalarea unui deficit în vitamina B1 şi, consecutiv, la aceşti bolnavi, apare frecvent encefalopatia Wernicke.

De aceea, la pacienţii cu infecţie HIV se recomandă o suplimentare cu Vitamina B1, prin dietă (1,5 mg/zi) sau terapeutic (1 mg/zi). Doza toxică de Vitamina B1 este de 50 mg/kg.c./zi sau mai mare de 3 g/zi.

15.2. VITAMINA B6 este un amestec de Piridoxal, Piridoxină, 5`-fosfat-piridoxal, 5`-fosfat-piridoxină.

Deficitul în Vitamina B6 produce următoarele efecte asupra funcţiilor S.I. [15]:

- scade sinteza de anticorpi;
- deprimă reacţiile de răspuns ale limfocitelor la stimulii exogeni;
- deprimă funcţiile LyT citotoxice.

Scanned with OKEN Scanner

La pacienţii cu SIDA şi deficite în Vitamina B6 se recomandă o suplimentare prin dietă (2 mg/zi) sau terapeutică (1,4 mg/zi).

Doza toxică de Vitamina B6 este mai mare de 100 mg/zi (SUA), respectiv, 7-10 g/zi (Anglia).

Efectele intoxicaţiei se manifestă prin neurotoxicitate, cu instabilitatea mersului, parestezii în membre, convulsii.

15.3. VITAMINA D

Monocitele activate pot converti 25-hidroxivitamina D3 (25-OH D), forma relativ inactivă a vitaminei D, în 1α-25` -dihidroxi-vitamina D3 sau calcitriol, forma biologic activă a acesteia, care poate modula celulele SI după legarea ei la receptorii specifici de la nivelul nucleului [148, 189]. Calcitriolul modulează funcţiile monocitelor şi macrofagelor, activându-le producţia de monokine (TNF, IL-1, PGE2), protejându-le de efectul stresului termic şi blocându-le producţia de IFN, care poate inhiba mobilizarea Ca^{2*} din oase. De asemenea, metaboliţii Vitaminei D influenţează maturarea şi diferenţierea extratimică a LyT, activând iniţial populaţia LyT şi ulterior, inhibând-o. După părăsirea timusului şi pătrunderea lor în circulaţie, LyT îşi pierd receptorii pentru Vitamina D.

Vitamina D este indicată ca terapie adjuvantă în bolile neoplazice, pentru ameliorarea imunodepresiei. De asemenea, se recomandă o suplimentare cu Vitamina D la pacienţii infectaţi HIV, în special sub forma dietei (5 micorgrame/zi, respectiv, 200 UI/zi).

Doza toxică a Vitaminei D a fost apreciată la mai mult de 100.000 UI. Efectele toxice se manifestă prin hipercalcemie şi hipercalciurie.

15.4. VITAMINA B12 [92, 155]

Nivelurile plasmatice scăzute ale vitaminei B12 induc o diminuare a funcţiei cognitive. Depleţia tisulară a acestei vitamine produce afectarea funcţiei SNC.

Au fost raportate niveluri plasmatice scăzute ale Vitaminei B12 la persoane cu infecţie HIV asimptomatică, în pofida asigurării unei diete adecvate. Ca rezultat direct al infecţiei HIV, este lezată integritatea mucoasei intestinale, cu modificări inflamatorii ale colonului, cu malabsorbţia Vitaminei B12.

La bolnavii cu SIDA se recomandă o suplimentare cu Vitamina B12 prin dietă (2μg/zi) sau terapeutic, pe cale intramusculară (1,5mg/zi). Suplimentarea cu B12 este recomandată şi în cazul reducerii volumului corpuscular al eritrocitului. Nu s-a determinat doza toxică.

Scanned with OKEN Scanner

15.5 ACIDUL FOLIC [16]

Rezultatele obţinute în urma determinării nivelurilor folaţilor din plasmă şi eritrocite, la bolnavi cu SIDA, au fost diferite, pentru grupuri diferite de cercetători.

Astfel, Beach RS şi colab. (1991) [155] au găsit niveluri crescute semnificativ la 58% dintre pacienţii cu infecţii HIV asimptomatice, în timp ce, anterior, Boudes P şi colab. (1990) [155], măsurând nivelurile folatului la 74 persoane infectate HIV (care nu au primit folaţi suplimentar şi nici o medicaţie antifolat), au găsit o scădere semnificativă a nivelurilor folaţilor serici şi eritrocitari, la 64% dintre subiecţi. Cauzele alterării nivelurilor serice şi eritrocitare ale folaţilor şi mecanismul prin care se produce acest proces rămân necunoscute.

Unele medicamente utilizate ca antiretrovirale sau în terapia infecţiilor oportuniste la pacienţi cu SIDA, prezintă, însă, efecte antifolat: Metotrexat, Pirimetamina, Trimetoprim. În timpul utilizării acestor medicamente, se recomandă suplimentarea cu folaţi, în doze de 15mg/zi. De asemenea, în cursul terapiei cu aceste medicamente, este necesar un screening hematologic, incluzând şi testele pentru diagnosticarea megaloblastozei.

Utilizarea acidului folic poate masca disfuncţiile neurologice datorate deficitului în Vitamina B12.

15.6. VITAMINE CU EFECTE ANTIOXIDANTE [19, 20, 252]

15.6.1. Vitamina A şi β-carotenul [45, 71, 80, 148, 170, 188, 189]

Una dintre manifestările precoce ale deficitului în Vitamina A (retinol) o constituie afectarea integrităţii structurale a epiteliilor, producându-se metaplazia scuamoasă a acestora. În acest fel, este afectată una dintre primele linii ale apărării imunitare.

Mecanismele prin care Vitamina A şi β-carotenul sunt implicate în imunomodulare sunt următoarele:

- determină creşterea numărului celulelor NK;
- determină efecte antioxidante;
- stimulează proliferarea şi activarea limfocitelor;
- stimulează producţia de IL-2 şi IFNα;
- reglează raportul celule CD4/celule CD8.

Se recomandă suplimentări cu Vitamina A la persoanele cu neoplazii sau cu SIDA. Suplimentările se fac sub forma dietei (5000 UI/zi, echivalentul a 1000 g retinol) sau terapeutic (7000 micrograme/zi). Doza toxică este mai mare de 50.000 UI/zi (SUA), respectiv mai mare de

Scanned with OKEN Scanner

9000 micrograme/zi (Anglia). Nu s-au descris dozele toxice pentru β-caroten [45, 71].

Efectele toxice ale Vitaminei A sunt:

- leziuni osoase;
- tulburări gastro-intestinale;
- hepatotoxicitate;
- tulburări ale funcţiilor SNC;
- teratogenicitate.

Vitamina A este un antioxidant mai puternic decât β-carotenul. Un nivel seric al Vitaminei A mai mic decât 0,7 micromoli/litru este un indicator al deficienţei, fiind asociat cu o depleţie severă a depozitelor hepatice şi cu manifestări clinice.

β-carotenul şi ***carotenoizii*** asociaţi carotenului (cum ar fi, ***Canthaxanthin***, care este β,β-caroten-4,4 dione şi ***Astaxanthin***, care este 3,3`-dihidroxil-β,β-caroten-4,4-dionă) prezintă acţiuni imunomodulatorii, în sensul stimulării răspunsului proliferativ al celulelor splenice şi a timocitelor la şoareci BALB/c [188].

Astaxanthin stimulează producţia de anticorpi policlonali (IgM şi IgG) la concentraţii crescute, dar şi la concentraţii scăzute, în timp ce β-carotenul stimulează această producţie numai la concentraţii crescute (2×10^{-7} M).

Canthaxanthin prezintă efecte moderate asupra producţiei de Ig M şi Ig G, independent de concentraţie.

Aceşti carotenoizi, ca şi β-carotenul, stimulează în mod semnificativ eliberarea de IL-1α şi de TNFα, de către celulele macrofage peritoneale de şoarece, la niveluri diferite: ASTAXANTHIN > CANTHAXANTHIN > β-caroten.

β-carotenul poate fi considerat o importantă substanţă antitumorală, recomandându-se bolnavilor cu neoplazii, consumul de vegetale şi fructe care conţin β-caroten. Pe de altă parte, un studiu recent prospectiv în Finlanda a indicat că o suplimentare cu β-caroten a crescut semnificativ incidenţa unor tipuri de tumori la bărbaţii fumători. Pentru a elucida această discrepanţă, autorii au iniţiat o analiză sistematică a efectelor β-carotenului şi a carotenoizilor asupra unor faze ale carcinogenezei: iniţierea tumorii, promovarea, reglarea imunologică a acestora. Autorii au demonstrat că β-carotenul şi Canthaxanthin au potenţial antigenotoxic, care este mai mare decât acela al Acidului ascorbic şi al α-tocoferolului, dar mai mic decât acela al retinolului şi al Acidului retinoic (referitor la exprimarea genei C umu sub acţiunea unor substanţe genotoxice). Ei au indicat de asemenea, că

Scanned with OKEN Scanner

β-carotenul stimulează proliferarea celulelor în faza de promovare a tumorii, precum şi activitatea ornitin-decarboxilazei în fibroblastele de şoarece.

Rezultatele obţinute în urma studiului au demonstrat că β-carotenul şi carotenoizii determină o stimulare semnificativă a proliferării şi a altor funcţii ale celulelor imunocompetente. β-carotenul prezintă activitate de tip Vitamina A, în timp ce Canthaxanthin şi Astaxanthin nu prezintă acest tip de activitate. β-carotenul, Cantaxanthin şi Astaxanthin produc efecte stimulatorii ale producţiei de Ig M şi Ig G, la β-caroten efectul fiind mai slab comparativ cu Astaxanthin.

Prin stimularea eliberării de IL-1α de către macrofagele peritoneale de şoarece, carotenoizii intervin în reglarea diferenţierii celulelor B.

Administrarea orală de β-caroten sau Canthaxanthin a determinat o regresie a tumorii induse chimic experimental la hamster, această regresie fiind însoţită de stimularea producerii de către macrofage de TNFα, "in situ". Pe de altă parte, în timp ce inducerea producţiei de TNFα de către macrofage este realizată printr-un efect direct sau indirect, producerea de TNFα de către alte celule imunocompetente se realizează printr-un mecanism încă neelucidat.

Astaxanthin prezintă cea mai crescută activitate imunomodulatorie, β-carotenul, activitatea cea mai puţin intensă, iar Canthaxanthin, o activitate moderată. Aceste efecte imunomodulatorii se alătură efectului antioxidant şi de epurator ("scavenger") de radicali liberi de oxigen, care caracterizează carotenoizii.

Vitamina A (retinol) şi derivaţii săi, ***acidul trans-retinoic şi 13-cis-retinoic***, sunt inductori de diferenţiere, denumiţi generic ***retinoizi.*** Aceştia intervin în creştere şi morfogeneză, reproducere, dezvoltarea SN şi a funcţiei vizuale, diferenţierea celulelor epiteliale, modularea funcţiilor imunitare [80, 148, 170, 189].

Efectele asupra sistemului imunitar, ca şi în cazul citokinelor, sunt multiple şi pleiotropice, constând în următoarele [80, 148, 189]:

- stimularea producerii de anticorpi;
- stimularea răspunsului imun mediat celular;
- creşterea nivelului de celule TIL;
- inducerea sintezei de prostaglandine;
- stimularea activităţii fagocitare a macrofagelor;
- creşterea expresiei receptorilor pentru IL-2;
- creşterea nivelului de celule LAK;
- creşterea limfocitelor Th (sub acţiunea acidului 13-cis-retinoic) şi a celulelor NK (sub acţiunea beta-carotenului);

Scanned with OKEN Scanner

Efectul retinoizilor se realizează prin intermediul unui receptor nuclear specific înrudit cu receptorii pentru hormonul tiroidian T3 şi vitamina D, care controlează transcripţia unor gene specifice [Zelent şi colab., 1989; citaţi bibl. 170]. Pe de altă parte, natura amfifilă a retinoizilor sugerează că ei pătrund în stratul bimolecular lipidic al membranelor, care poate constitui un alt situs de acţiune. Permeabilitatea membranelor fosfolipidice pentru retinoizi este crescută sub acţiunea soluţiilor bogate sau sărace în electroliţi [Stillwell şi Bryant, 1983; Stillwell şi colab., 1982; citaţi bibl. 170]. Pătrunderea transmembranară poate constitui o cauză a citotoxicităţii retinoizilor [170].

Date experimentale au arătat că retinoizii pot induce diferenţierea celulară în următoarele condiţii fiziopatologice:

- leucemii acute mieloide umane;
- neuroblastom;
- teratocarcinom;
- melanom;
- rabdomiosarcom.

În toate situaţiile de mai sus există un blocaj al procesului de diferenţiere.

De asemenea, retinoizii, prin inducerea sintezei de TGF-β, produc inhibiţia creşterii şi diferenţierea celulelor în:

- adenocarcinom (plămân, sân, prostată, endometru, colon);
- carcinoame pavimentoase (plămân, vulvă);
- limfoame T cutanate.

Un alt mecanism prin care retinoizii pot avea un efect antitumoral este inducerea fenomenului de moarte celulară programată sau apoptozis.

De asemenea, retinoizii prezintă efecte antiinflamatorii comparabile cu cele produse de glucocorticosteroizi şi mai puternice decât ale antiinflamatoarelor nesteroidienelor din grupa derivaţilor de acid propionic (de tipul, Ketoprofen). Efectul lor antiinflamator este însoţit de o scădere a nivelurilor tisulare de 6-Keto-$PGF_{1\alpha}$, PGE_2, LTB_4, LTC_4 şi LTD_4.Mecanismul de acţiune prin care retinoizii exercită aceste efecte constă probabil în inhibarea directă a fosfolipazei A_2 [170]. Astfel, este inhibată producţia de prostaglandine şi leucotriene [Vane, 1972; citat bibl., 170]. Dependent de doză, retinoizii inhibă COX-1 şi COX-2 [170].

Scanned with OKEN Scanner

Retinoizii şi-au dovedit eficienţa în următoarele **indicaţii terapeutice [80, 148, 189]**:

- leucemia acută promielocitară, leucemia mielogenă cronică juvenilă;
- sindroamele mielodisplazice;
- micozis fungoides;
- mielom multiplu;
- cancerele pulmonare şi ORL;
- carcinoamele cutanate;
- melanomul malign;
- cancerul de col uterin;
- carcinomul de prostată;
- neuroblastom;
- sarcoame de părţi moi;
- tumori cerebrale;
- profilactic în: leziunile precursoare ale cancerului de sân, ale căilor aerodigestive superioare, plămânului şi colului uterin;
- psoriazis;
- ca adjuvanţi, pentru efectele antiinflamatorii, în tratamentul inflamaţiilor cutanate induse de factorii promotori tumorali şi de stimulii imunologici.

Efectele adverse ale retinoizilor sunt minime, reprezentate de leziuni reversibile la nivel cutaneo-mucos, sistem nervos, hepatic, musculo-scheletic şi pot fi menţinute sub control prin limitarea dozelor [148].

Eficienţa retinoizilor este considerabil crescută în asociere cu diferite medicamente citostatice [148].

15.6.2. Vitamina E *(Tocoferolul)* intervine în imunomodulare prin stimularea activităţii LyTh. Deficitul în Vitamina E creşte incidenţă şi severitatea infecţiilor. La persoanele infectate HIV s-au observat niveluri serice scăzute ale Vitaminei E [148, 186, 189, 193].

În practică, necesarul în Vitamina E este determinat de valoarea raportului Tocoferol/lipide. Nivelurile serice şi tisulare ale Vitaminei E se află în strânsă interdependenţă cu concentraţia tisulară în acid gras polinesaturat. În cazul malabsorbţiei lipidelor, necesarul în Vitamina E este redus.

La pacienţii cu infecţie HIV şi în neoplazii, se recomandă ca adjuvant Vitamina E, sub forma dietei (10 mg/zi) sau terapeutic (4 mg/zi) [186].

Nu există date privind doza toxică a Vitaminei E, dar o suplimentare de lungă durată cu această Vitamină şi/sau în doze foarte mari (peste

Scanned with OKEN Scanner

20 UI/kg corp) poate provoca imunosupresie şi un sindrom neurologic cu evoluţie progresivă.

15.6.3. Vitamina C *(Acidul ascorbic)* este implicată în imunomodulare prin următoarele mecanisme [2, 91, 148, 189, 193, 220]:

- reglează sinteza de colagen;
- stimulează fagocitoza şi reduce remodelarea în timpul reacţiilor oxidative;
- determină efecte indirecte antioxidante;
- stimulează sinteza de anticorpi;
- stimulează producţia de IFN.

De asemenea, dependent de doză, Acidul ascorbic prezintă acţiune anti-HIV (inhibând revers transcriptaza, în celulele CD4 infectate cronic, la doze mai mari de 50 mg/ml, "in vitro"). Acest aspect sugerează o indicaţie a Vitaminei C în terapia combinată antiretrovirală.

De asemenea, Vitamina C este indicată ca terapie adjuvantă în neoplazii.

Dozele recomandate pentru suplimentarea cu Vitamina C sunt de 60 mg/zi (în dietă), respectiv, 40 mg/zi (terapeutic). Doza toxică a fost apreciată la mai mult de 1000 mg/zi (SUA). "In vitro", un nivel mai mare de 400 mg/ml determină efecte citotoxice la peste 50 % din celulele CD4 în cultură.

Efectele toxice ale Vitaminei C sunt: greţuri, vărsături, diaree. Administrarea cronică a Vitaminei C produce, la pacienţi cu tendinţă crescută pentru sinteză de oxalaţi, calculi renali. Dozele mari de Vitamina C interferă cu testele de laborator pentru hemoragii oculte în materiile fecale şi cu testele pentru determinarea uremiei şi glicemiei (valori fals crescute) [91, 220].

Enzimele cu rol antioxidant sunt reprezentate de: superoxid-dismutaza (***SOD***), catalaza, sistemul glutationului (peroxidaze, reductaze) [252].

16. SELENIUL, CUPRUL, ZINCUL ŞI FIERUL

16.1. SELENIUL este un element esenţial pentru funcţionarea glutation-peroxidazei, o enzimă implicată în peroxidarea lipidică şi distrugerea peroxidului de hidrogen, protejând astfel celulele de leziunile oxidative [156]. Nivelul plasmatic normal al Seleniului este de 100 nanograme /ml şi este apreciat prin activitatea glutation-peroxidazei.

Scanned with OKEN Scanner

Nivelurile plasmatice scăzute ale Seleniului produc o scădere a activității celulelor NK, în timp ce valorile crescute determină o diminuare a sintezei de anticorpi şi o deprimare a răspunsului limfocitar la mitogene. De asemenea, în condiţii de stres, are loc o sinteză crescută a glutation-peroxidazei, cu o consecință directă în scăderea nivelurilor plasmatice ale Seleniului. Seleniul este implicat în imunosupresia din cursul evoluției infecției HIV, fiind un factor important în instalarea cardiomiopatiei neobstructive, complicație frecventă a acestei afecțiuni. Nivelul Seleniului plasmatic este redus semnificativ la pacienții cu SIDA şi cardiomiopatie neobstructivă.

La bolnavii infectați HIV se recomandă o suplimentare cu Seleniu prin dietă (70 micrograme/zi) sau terapeutic (0,9 micromoli/zi). Doza toxică a fost apreciată la 1000 micrograme selenit de sodiu pe zi (SUA), respectiv, 750 micrograme/zi (Anglia).

Efectele toxice ale Seleniului sunt:

- alopecie;
- leziuni cutanate;
- afectarea simțului tactil;
- tulburări neurologice;
- imunodepresii.

16.2. CUPRUL ŞI ZINCUL [39, 83]

Nivelurile plasmatice ale Cuprului şi Zincului sunt afectate de răspunsul fazei acute în procesul inflamator, constatându-se o creştere semnificativă a acestora în timpul inflamației, infecției şi în cursul dezvoltării proceselor neoplazice.

Nivelurile plasmatice ale ***Cuprului*** pot creşte în cursul infecției, parțial din cauza producției intensificate de ceruloplasmină.

Malabsorbția ***Zincului*** conduce la un deficit de Zinc şi determină o diminuare a dezvoltării timusului la copii, asociată cu afectarea unor parametri imunitari: scăderea numărului de LyT şi LyB, diminuarea răspunsului limfocitelor T citotoxice la stimuli şi scăderea funcției celulelor NK. Atât la om, cât şi la animale, Zincul este un mitogen limfocitar, producând o stimulare a proliferării LyT şi LyB.

La indivizii cu infecție HIV simptomatică, se constată niveluri serice crescute de Cupru şi scăzute de Zinc, fără ca nivelurile tisulare ale acestora să fie modificate. Modificările nivelurilor serice ale Zincului şi Cuprului sunt legate de răspunsurile fazei acute, ca efecte directe ale acțiunii HIV şi pot constitui markeri predictivi ai progresiei SIDA.

Scanned with OKEN Scanner

La pacienţii cu infecţie HIV, se recomandă suplimentări cu Zinc prin dietă (15 mg/zi) sau terapeutic, pe cale intravenoasă (145 micromoli/zi) şi suplimentări de Cupru prin dietă (1,5 - 5 mg/zi) sau terapeutic, (19 micromoli/zi). Doza toxică de Zinc a fost apreciată la mai mult de 15 mg, până la 300 mg/zi (SUA), respectiv, 75-300 mg/zi (Anglia).

Efectele toxice constau în: deficite de Cupru, anemie, efecte gastro-intestinale, cardiace, neurologice, ulceraţii superficiale gastrice; la doze în jurul a 300 mg/zi, se constată: imunosupresie, cu afectarea funcţiilor limfocitului şi neutrofilului, efecte cardiovasculare, greţuri, vărsături, crampe abdominale, dureri epigastrice, diaree.

Administrarea regulată a unei doze superioare de Zinc, mai mică de 50 mg/zi, interferă cu utilizarea Cuprului şi determină: hipocupremie, anemie, leucopenie, neutropenie.

Doza toxică de Cupru este mai mare de 10 mg/zi (SUA).

Efectele toxice sunt: afectare gastro-intestinală, anemie, tahicardie.

Administrarea unei doze de 1 mg sulfat de Zinc/kg corp/zi, pe cale intravenoasă, 10 săptămâni, la pacienţi cu infecţie HIV, a determinat: creştere ponderală semnificativă şi creştere moderată a numărului de celule CD 4/ml.

16.3. FIERUL [51]

Un nivel al feritinei serice mai mic de 12 mg/l sugerează că rezervele de Fier sunt scăzute. Deficitul în Fier se manifestă prin: anemie, scăderea feritinei serice, volum corpuscular mediu eritrocitar anormal, saturaţie în transferină sau protoporfirină. De asemenea, deficitul în fier este asociat cu afectarea imunităţii mediate celular (scăderea numărului LyT, scăderea capacităţii bactericide a PMN).

Pe de altă parte, suplimentarea cu Fier la indivizii malnutriţi prezintă riscul unei creşteri a sensibilităţii faţă de infecţii.

La adulţi, o doză de 100 g s-a dovedit letală. Intoxicaţia cu Fier este mai frecventă la copii, se produce la o doză unică de 20 mg/kg corp şi se manifestă prin creşterea sensibilităţii la infecţii, efecte gastro-intestinale, şoc.

Doza de Fier recomandată pentru suplimentare la pacienţii cu infecţie HIV este de 10 mg/zi, în dietă şi, respectiv, 8,7 mg/zi, terapeutic. Totuşi, problema suplimentării cu Fier la aceşti bolnavi rămâne deschisă.

Scanned with OKEN Scanner

17. AMINOACIZII

Pacienţii cu aminoacidopatii prezintă frecvent infecţii recurente. Pornind de la faptul că aceste afecţiuni se caracterizează din punct de vedere biochimic prin acumularea tisulară a aminoacizilor, a fost sugerată ipoteza că aceşti compuşi pot acţiona ca imunosupresoare.

S-au demonstrat următoarele efecte de tip imunomodulator ale aminoacizilor [13, 18, 20, 38, 57, 66, 69, 116, 117, 191, 216, 227, 238, 248, 258, 259]:

- ***CISTEINA*** stimulează proliferarea şi maturarea limfocitelor;
- ***GLUTAMATUL, TRIPTOFANUL, FENILALANINA şi GLUTAMINA*** produc o inhibare semnificativă a proliferării limfocitelor.
- ***ARGININA*** determină scăderea TNFα şi a IL-1β din macrofagele alveolare în timpul evoluţiei leziunilor pulmonare; efectele antiinflamatorii ale Argininei sunt mediate de oxidul nitric [1, 2, 3, 26].

O parte din autori recomandă prudenţă la administrarea "agresivă" a suplimentărilor de Arginină pentru a inhiba imunosupresia determinată de cancer, malnutriţie sau traumatisme. Doze farmacologice de Arginină au determinat inhibiţia reversibilă a proliferării limfocitare normale sub acţiunea mitogenelor şi a alloantigenelor [259].

S-a demonstrat experimental că prin stimularea "nespecifică" a sistemului imun L-Arginină inhibă dezvoltarea tumorilor solide transplantate şi a tumorilor mamare induse chimic; de asemenea, determină micşorarea volumului tumoral în cazul cancerului colorectal [99, 150].

Suplimentarea dietei cu Arginină la pacienţii cu cancer colorectal a crescut citotoxicitatea naturală a limfocitelor din sângele periferic, efect demonstrat *in vivo* [66].

Experimente *in vitro* au demonstrat că amestecul de Arginină-Lisină, alături de glucoză şi în prezenţa ATP, determină creşterea activităţii celulelor NK, precum şi mărirea procentului de timocite [184].

Terapia cu un amestec al L-Argininei şi L-Lisinei (Lisargin) produce următoarele **efecte farmacodinamice** [86, 119, 163]:

- restabilirea funcţiei timice la şoarecii şi la oamenii în vârstă;
- efecte protectoare la copiii cu afecţiuni respiratorii recurente;
- creşterea numărului de limfocite CD3+ la pacienţii cu leucemie limfatică cronică;
- creşterea migrării neutrofilelor şi a chemotactismului acestora;
- creşterea numărului de limfocite cu activitate citotoxică şi a nivelurilor de IgG [9].

Scanned with OKEN Scanner

L-Arginina inhibă diferențial agregarea plachetară la om și formarea TX-A2 [24] și diminuează proliferarea celulelor miointimale și acumularea monocitelor la nivel vascular, aceste date fiind obținute experimental la iepurii cu o alimentație cu exces de colesterol [25]. L-Arginina determină scăderea producției de monokine proinflamatorii de către macrofagele alveolare în cursul lezării acute a plămânilor printr-un mecanism dependent de NOS [164].

De asemenea, suplimentarea cu L-Arginină a dietei, pe termen lung previne scăderea funcției renale la persoanele în vârstă [208].

L-arginina inhibă diferențial agregarea plachetară la om și formarea $TX\text{-}A_2$ [24] și scade proliferarea celulelor miointimale și acumularea monocitelor la nivel vascular la iepurii alimentați experimental cu exces de colesterol [25].

L-arginina scade producția de monokine proinflamatorii de către macrofagele alveolare în cursul lezării acute a plămânilor printr-un mecanism dependent de NOS [164].

De asemenea, suplimentarea cu L-arginină a dietei, pe termen lung, previne scăderea funcției renale la persoanele în vârstă [208].

L-ALANINA, L-SERINA, L-TREONINA, L-PROLINA, L-ASPARAGINA, L-GLUTAMINA și L-HISTIDINA previn apoptoza unor celule, între care, pe cea a limfocitelor B (scad rata mortalității celulare și cresc viabilitatea celulară *in vitro*.

Soluții conținând amestecuri de aminoacizi, în administrare parenterală, inhibă acțiunea supresoare a glucozei asupra activității antimicotice, a neutrofilelor, într-o zonă limitată alăturată cateterului *in situ* (inhibă dezvoltarea *Candidei* în zona respectivă).

Cisteina stimulează reacțiile de răspuns ale limfocitelor la mitogene (PHA, ConA, PWM), în timp ce ***Glutamatul, Triptofanul, Fenilalanina*** și ***Glutamina*** le inhibă.

Proliferarea limfocitelor sub acțiunea mitogenelor este dependentă de niveluri adecvate ale Glutationului redus (GSH), în special la începutul ciclului celular, iar aceste niveluri sunt dependente de transportul ***CISTEINEI*** în celulă. Datele din literatură afirmă că anumite proporții ale captării Cisteinei influențează nivelurile GSH [7, 112, 210, 230]. Mecanismul prin care GSH stimulează proliferarea limfocitelor este necunoscut, dar unii cercetători consideră că modificările potențialului reducător celular datorate scăderii nivelurilor GSH, pot conduce la o diminuare a ribuloz-5-fosfatului, care este esențial pentru transformarea celulară. De asemenea, în prezența GSH, Cisteina captează radicalii liberi, care sunt formați în timpul perioadei inițiale a activării mitogenice

Scanned with OKEN Scanner

limfocitare [252]. Nu se poate însă preciza dacă Cisteina este un agent reducător, asemănător Glutationului.

S-a demonstrat experimental că suplimentarea în dietă cu Cisteină influențează sistemul imunitar şi răspunsul inflamator: puii de găină cu dietă bogată în Cisteină prezintă o proliferare semnificativă a celulelor mononucleare din sângele periferic şi creşterea activității IL-1 [230].

GLUTAMINA inhibă blastogeneza limfocitelor stimulate de PHA, ConA (stimulatori ai LyT) şi de lipopolizaharid (stimulator al LyB) [7, 14, 213, 231]. Prin urmare, deşi Glutamina, la concentrații optime, de 0,5 mM, care corespund concentrațiilor serice umane (0,57 mM), este esențială în mediul de cultură ca sursă de energie şi NO pentru sinteza nucleotidelor, la concentrații mari, ea are un efect inhibitor, datorat probabil formării compuşilor toxici ai Glutaminei. O altă explicație ar fi aceea că se formează concentrații crescute de Glutamat, un agent imunosupresor.

Glutamina reprezintă un nutrient important pentru anumite celule ale sistemului imun şi poate prezenta efecte imunostimulatoare. Administrarea de Glutamină după efort prezintă un efect benefic privind infecțiile; de asemenea raportul limfocite T helper/limfocite T supresor este crescut la persoanele care au primit Glutamină, comparativ cu placebo [36]. Efortul prelungit induce scăderea proliferării limfocitelor T periferice, fenomen reversibil care revine la normal în aproximativ 24 de ore; imunosupresia indusă de efort este asociată cu scăderea concentrațiilor periferice de Glutamină [130].

Celulele sistemului imunitar utilizează Glutamina pentru a menține o concentrație intracelulară înaltă de intermediari ai căilor de biosinteză a ADN, ARN, respectiv ai biosintezei proteice. În absența Glutaminei, limfocitele nu proliferează *in vitro*; rata de proliferare creşte odată cu mărirea concentrației de Glutamină. Sinteza de IL-2 de către limfocite şi a IL-1 de către macrofage este dependentă de Glutamină. Glutamina este sintetizată în muşchii scheletici; nivelurile musculare şi plasmatice ale Glutaminei sunt scăzute în sepsis, leziuni, arsuri, intervențiile chirurgicale şi în timpul exercițiilor prelungite la atleții antrenați. Aceste observații sugerează că o caracteristică a oricărui traumatism este depleția musculară de Glutamină, contribuind, probabil, la imunosupresia prezentă în astfel de situații. S-au semnalat efecte benefice ale administrării de Glutamină sau de precursori ai acesteia la pacienți care au fost supuşi intervențiilor chirurgicale, radioterapiei sau unui transplant medular, la pacienți cu septicemii sau arsuri [182].

Suplimentările cu Glutamină nu modifică nivelurile plasmatice ale Glutaminei, dar determină creşteri plasmatice ale Leucinei, Isoleucinei şi

Scanned with OKEN Scanner

Valinei, precursori ai Glutaminei. Mecanismul de inhibare a creşterii tumorale de către Glutamină nu este clar, realizându-se probabil, prin schimbări în disponibilitatea substratului, prin stimularea activităţii citotoxice, antitumorale a celulelor NK şi prin răspunsuri rapide la schimbările statusului imunitar [217, 222].

Glutamina accelerează producţia de IL-6 de către macrofagele peritoneale de şobolani în cultură [266].

O serie de experimente *in vitro* au evidenţiat dependenţa funcţiilor limfocitelor umane de Glutamina exogenă. Markeri ai activării precoce limfocitare (IL-2, IL-2R, IL-4, GM-CSF, IFNγ) au fost detectaţi chiar în absenţa administrării Glutaminei exogene. Pe de altă parte, evenimentele tardive ale activării limfocitare, cum ar fi producţia de citokine, proliferarea limfocitelor şi activarea celulelor NK mediată de limfokine, sunt dependente de administrarea Glutaminei exogene [94].

Nutriţia parenterală totală determină atrofia nodulilor limfatici intestinali, scăderea nivelurilor intestinale de IgA şi afectează imunitatea mucoasei tractului respirator superior mediată de IgA. Soluţiile utilizate în nutriţia totală parenterală, îmbogăţite cu Glutamină, previn toate aceste modificări, mărind protecţia dată de IgA la nivelul tractului respirator superior şi normalizând populaţiile limfocitare intestinale [145].

Suplimentările cu Glutamină ameliorează capacitatea bactericidă a neutrofilelor la pacienţi care au suferit intervenţii chirurgicale [68].

Suplimentările cu Glutamină pe cale orală protejează limfocitele şi ameliorează permeabilitatea intestinală la pacienţi cu cancer esofagian în timpul radioterapiei [268].

Glutamina reprezintă un important substrat nutritiv pentru limfocite şi macrofage *in vitro*. *In vivo*, nutriţia parenterală suplimentată în Glutamină ajută la normalizarea funcţiilor limfocitelor după transplant medular [274].

Sindromul determinat de scăderea nivelurilor serice de Cisteină şi Glutamină ("low CG syndrome") este caracterizat de niveluri plasmatice anormal de scăzute de Cisteină şi Glutamină, de o activitate scăzută a celulelor NK, oboseală musculară şi creşterea producţiei de uree. Acest sindrom este prezent la pacienţii cu infecţii HIV, neoplazii, traumatisme majore, septicemii, boala Crohn, colita ulcerativă, sindromul de oboseală cronică, la unii atleţi cu antrenamente obositoare; coincidenţa prezenţei acestui sindrom în boli diferite ca etiologie sugerează o relaţie cauzală. Scăderea nivelurilor plasmatice de Cisteină este corelată cu scăderea limfocitelor CD4+. Studii recente sugerează utilizarea Cisteinei ca o terapie

Scanned with OKEN Scanner

benefică în infecţia HIV, alături de tratamentul antiviral [54, 56, 95, 98, 168, 181, 183, 185].

HOMOCISTEINA, sub formă redusă , în concentraţii crescute, poate contribui la formarea radicalilor liberi de oxigen, accelerând astfel deteriorarea imunologică şi creşterea replicării HIV. La pacienţii infectaţi HIV s-a observat o interesantă corelare între concentraţiile scăzute de Metionină (care determină hiperhomocisteinemie) şi scăderea numărului de limfocite CD4+ [172].

Creşterea nivelului plasmatic al Homocisteinei reprezintă un factor de risc pentru ateroscleroză şi tromboza arterială şi venoasă. Datele experimentale demonstrează că deficitul de acid folic la şobolani (o cauză majoră de hiperhomocisteinemie) este asociată cu creşterea activităţii plachetare şi a factorilor derivaţi din macrofage; prelungirea administrării dietei deficitare în Metionină potenţează agregarea plachetară, ca şi sinteza de tromboxani [55]. Homocisteina induce vasoconstricţia endotelianlă la nivelul vaselor coronare, determinând disfuncţii ale celulelor endoteliale şi creşterea celulelor musculare netede vasculare. Astfel, creşteri ale nivelului de Homocisteină pot contribui la dezvoltarea leziunilor fibrotice aterosclerotice şi a disfuncţiilor vasculare [251].

Există o corelaţie pozitivă între nivelurile plasmatice ale Homocisteinei şi cele ale colesterolului la pacienţii cu hiperhomocisteinemie (ceea ce confirmă datele experimentale pe animale de laborator). Homocisteina stimulează producţia şi secreţia colesterolului şi a apolipoproteinei B 100 la nivelul culturilor celulare hepatice linia HepG2. Acest fenomen poate contribui la patogeneza arteriosclerozei [149].

SERINA. Compuşii acilglucosaminici nefosforilaţi (A-601, A-602 şi A-603) legaţi la Serină N-acetilată cu tetradecanoil şi compusul A-103 (2,3-aciloxiacil-glucosamina-4-fosfat) - analogi de sinteză ai lipidului A - prezintă următoarele **efecte farmacodinamice**:

- A-603 stimulează proliferarea mitogen-indusă a celulelor mononucleare din sângele periferic şi producţia de TNF;
- A-603, A-602 şi A-603 activează celulele preB şi stimulează formarea imunoglobulinelor;
- A-601 şi A-603 stimulează splenocitele, activează limfocitele T şi limfocitele B.

Compuşii A-601 şi A-603 prezintă dezavantajul unei citotoxicităţi crescute [242]. Pe de altă parte, există date experimentale care arată că Serina sau Ornitina legate la o structură lipidică izolată din bacterii nu prezintă risc metal pentru animalele de experienţă (şoareci). Pornind de la aceste aspecte, au fost testate efectele Ornitinei, respectiv, Serinei, legate de

Scanned with OKEN Scanner

o structură lipidică, asupra macrofagelor. S-a constatat că Ornitina conţinând lipid nu este toxică pe macrofage, în timp ce Serina conţinând lipid este toxică asupra acestor celule.

Serina sintetică acilată nelegată la structura lipidică are efect letal chiar la o doză foarte mică, de 1 nmol/şoarece, sugerând că letalitatea compuşilor A-601 şi A-603 este datorată Serinei acilate.

Prezenţa unui grup fosforil în structura analogilor lipidului A, intensifică acţiunea antitumorală a compuşilor respectivi [242].

FENILALANINA are acţiune inhibitorie asupra proliferării limfocitelor. Pornind de la faptul că acest aminoacid şi metaboliţii lui pot inhiba proliferarea neuronilor în cultură şi că sintezele de ADN la nivelul SNC sunt blocate în cazul fenilketonuriei, s-a sugerat ipoteza că Fenilalanina are un efect inhibitor nespecific asupra maturării celulelor.

GLUTAMATUL prezintă un efect antiproliferativ puternic, inhibând transformarea mitogen-indusă a limfocitelor, indiferent de categoria de mitogene [8]. Aceste date coincid cu cele observate în legătură cu diminuarea răspunsurilor limfocitelor stimulate cu PHA, ConA şi PWM la pacienţi cu tumori maligne şi niveluri plasmatice crescute ale Glutamatuluii. Reducerea nivelurilor Glutamatului după înlăturarea tumorii conduce la un răspuns limfocitar normal, ceea ce indică în mod clar o interrelaţie strânsă între nivelurile crescute ale Glutamatului "in vivo" şi deprimarea SI. O explicaţie a acestor fenomene ar fi aceea că Glutamatul inhibă în mod competitiv transportul membranar al Cisteinei, conducând la o reducere a concentraţiei intracelulare de Cisteină (iar sintezele limfocitare de ADN depind de concentraţia GSH, care este în mod direct influenţată de nivelurile Cisteinei intracelulare). Efectul inhibitor al Glutamatului persistă chiar şi atunci când medicamentul este adăugat experimental în momente diferite de la începutul cultivării celulelor, sugerând că acest aminoacid acţionează atât pe perioadele precoce, cât şi pe cele tardive ale ciclului celular.

ACIDUL GLUTAMIC scade sensibilitatea celulelor de cultură HL-60 la IL-1β şi IL-6 şi creşte legarea TNFα [128, 129].

GLICINA. Experimente *in vitro* au demonstrat efectul protector al Glicinei asupra leziunilor hipoxice şi ischemice de la nivelul ţesuturilor articulaţiilor genunchiului; de asemenea, Glicina previne activarea macrofagelor şi a neutrofilelor *in vitro*. Suplimentarea în dietă cu Glicină poate reprezenta un tratament eficient şi sigur pentru reducerea toxicităţii renale a Ciclosporinei [154, 250]. De asemenea, s-a demonstrat experimental că o dietă conţinând glicină modifică rata supravieţuirii în şocul endotoxinic indus experimental la şobolan [110].

Scanned with OKEN Scanner

Aminoacidul cu efectul cel mai puternic asupra transformării "in vitro" a limfocitelor este ***TRIPTOFANUL***, care inhibă blastogeneza limfocitelor stimulate cu mitogene, la concentrații mai mici de 2 mM. Este dificil de interpretat acest efect al Triptofanului, iar mecanismul molecular de acțiune nu este încă elucidat [23, 76].

Aminoacizii menționați mai sus, cu excepția Glutaminei, acționează prin ei înșiși, producând efectele biologice descrise. Glutamina poate fi oxidată, cu formare de CO_2 și H_2O, pentru a produce energie.

Date relativ recente din literatura de specialitate descriu un nou aminoacid, care potențează secreția de insulină și, anume: ***4-hidroxi-isoleucina*** [215].

18. S-ADENOSIL-L-METIONINA ȘI ACIZII BILIARI [63, 252]

S-adenosil-L-Metionina, o substanță utilizată în mod obișnuit în tratamentul litiazelor biliare, la pacienți cu ciroză sau hepatită cronică, exercită un efect imunomodulator important, putând înlătura imunosupresia produsă de acizii biliari.

Acidul chenodeoxicolic inhibă proliferarea PHA-indusă a limfocitelor și producția lor de IFNγ, precum și producția lor PHA- și PWM-indusă de IL-2.

S-adenosil-L-Metionina nu afectează proliferarea limfocitelor, dar reduce secreția limfocitară de IL-2 în prezența PHA și PWM, precum și secreția de IFNγ indusă de PHA și PWM. S-adenosil-L-Metionina interacționează cu inhibarea produsă de Acidul chenodeoxicolic asupra proliferării limfocitelor și a producției lor de IL-2. Pacienții cu ciroză și hepatită cronică și, în special, aceia care au asociată o litiază biliară cu sau fără icter, prezintă o sensibilitate crescută față de infecții. Acest aspect a fost atribuit unei afectări a răspunsului imunitar mediat celular și unei anomalii a funcțiilor limfocitare la pacienții respectivi.

S-a demonstrat experimental că ***Acidul chenodeoxicolic (CDCA)*** și ***Acidul ursodeoxicolic (UDCA)*** inhibă proliferarea și funcțiile secretorii ale limfocitelor la oameni și la rozătoare.

S-adenosil-L-Metionina (SAMe) este un compus fiziologic implicat în funcțiile metabolice ale ficatului, unde el este sintetizat sub acțiunea metionin-adenosil-transferazei. În ficat, acest compus pune la dispoziție grupări metil pentru transmetilarea fosfolipidelor membranare, promovând astfel fluiditatea membranei celulare. SAMe este precursorul compușilor thiolici (de exemplu, Glutationul) implicați în procesele hepatice de detoxifiere. S-a demonstrat experimental proprietatea SAMe de a reface

Scanned with OKEN Scanner

leziunile provocate de litiază biliară. La pacienții cu hepatită cronică asociată litiazei biliare, tratamentul cu SAMe produce o ameliorare a markerilor clinici şi de laborator ai litiazei biliare. Nu s-a elucidat problema referitoare la acțiunea SAMe de influențare directă a funcțiilor limfocitelor umane sau prin interacțiunea cu efectele imunosupresoare datorate litiazei biliare.

CDCA inhibă funcțiile proliferative şi secretorii ale LyT umane, dar nu şi pe cele ale LyB. SAMe prezintă efecte de tip imunomodulator, readucând la normal atât proliferarea, cât şi funcțiile secretorii de IL-2 ale LyT, deprimate după expunerea "in vitro" la CDCA. Analizele efectelor CDCA asupra funcțiilor celulelor mononucleare din sângele periferic au confirmat capacitatea acestuia de a afecta precoce proliferarea celulară şi secreția de IL-2, în culturi celulare stimulate cu PHA. De asemenea, a fost detectată o puternică reducere a concentrațiilor de IFNγ în aceleaşi culturi stimulate cu PHA. Nu s-au constatat efecte ale CDCA asupra celulelor mononucleare stimulate cu PWM sau cu anticorpi anti-CD3. Atât IL-2, cât şi IFNγ sunt citokine secretate de subsetul LyTh-1 al LyT: ele sunt implicate în activarea răspunsurilor mediate celular ale SI (prin inducerea funcțiilor citotoxice ale limfocitelor T CD8+ şi ale celulelor NK); în continuare, IL-2 este, de asemenea, un factor crucial pentru activarea răspunsurilor LyB. Astfel, se pare că CDCA afectează atât componentele celulare, cât şi pe cele umorale ale SI. Toate acestea determină rolul CDCA în dezechilibrul imunitar din bolile hepatice cronice din cursul litiazelor biliare.

Mecanismele prin care CDCA exercită efectele sale imunosupresoare sunt încă neclare. Nu a fost implicat mecanismul "apoptosis", deoarece în toate cercetările experimentale, după expunerea la CDCA, viabilitatea celulară a fost mai mare de 90 %. Inactivarea mitogenelor prin CDCA poate fi exclusă, deoarece acidul biliar a fost capabil să exercite efect inhibitor chiar asupra reacțiilor unui amestec limfocitar. De asemenea, nu se poate discuta despre un efect de detergent al CDCA, deoarece în experimentele executate s-a utilizat o concentrație de 50 micromoli/litru, care este mult mai mică decât concentrația cu efect detergent (600 micromoli/l). La persoanele normale s-a detectat o concentrație a acizilor biliari de 50 micromoli/l de plasmă, iar în plasma bolnavilor cu litiază biliară, concentrațiile sunt mai mari de 1000 micromoli/l.

CDCA modifică compoziția membranei celulare: este capabil să solubilizeze fosfolipidele şi colesterolul, chiar la concentrații sub 600 micromoli/l, apa putând astfel penetra prin membrane. CDCA pătrunde în membranele celulare, modifică fluiditatea membranară şi interacționează

Scanned with OKEN Scanner

cu proteinele transmembranare, inducând astfel alterarea permeabilității pentru ioni şi activarea căilor de traducere a semnalului biologic postreceptor membranar (de exemplu, activarea protein-kinazelor A şi C a fost corelată cu creşterea exprimării Ag HLA de clasă I de către hepatocitele expuse la acțiunea acizilor biliari). Această ipoteză ar putea fi extinsă pentru efectele inhibitorii ale CDCA asupra SI, care includ următoarele:

- reacțiile unui amestec de limfocite;
- răspunsul proliferativ la mitogene;
- producția de citokine;
- activitatea celulelor NK.

SAMe la dozele de 1 şi 10 micrograme/ml nu afectează proliferarea celulelor mononucleare din sângele periferic după stimularea mitogenică, dar la 100 micrograme/ml induce o inhibare semnificativă a proliferării celulelor mononucleare după stimulare cu PWM şi anticorpi monoclonali anti-CD3, dar nu şi după stimularea cu PHA. SAMe, la concentrația de 100 micrograme/ml, a scăzut semnificativ nivelurile IFNγ, indiferent de stimulul mitogenic. S-a detectat totuşi o discrepanță între profilurile de secreție a IL-2 de către celulele mononucleare stimulate de PHA şi PWM, la concentrații diferite ale SAMe: în timp ce concentrațiile de 1,10 şi 100 micrograme/ml din SAMe au scăzut omogen secreția de IL-2 de către celulele mononucleare stimulate de PWM, la stimularea cu PHA s-a constatat o tendință bimodală a nivelurilor IL-2, cu reducerea acestora la concentrațiile de 1 şi 10 micrograme SAMe/ml, dar nu şi la 100 micrograme/ml. Aceste date sugerează că medicamentul SAMe acționează în acelaşi timp prin diferite mecanisme moleculare (comparativ cu acizii biliari) pe diferite subseturi ale celulelor mononucleare, activându-le pe diferite căi. SAMe modulează funcțiile limfocitelor umane cu o intensitate mai mică decât CDCA şi mai apropiată de ***UDCA***. SAMe modulează intensitatea fluorescenței medii liniare (LMF) - o măsură a densității Ag pe celulă - pentru CD2, CD4 şi Ag HLA de clasă I şi procentajul celulelor mononucleare CD3 şi Ag HLA de clasă II pozitive, în timp ce UDCA nu a afectat fenotipul celulelor mononucleare. Similaritățile între cei doi compuşi diferiți (UDCA şi SAMe) în ceea ce priveşte efectele pe producția de IL-2 ar putea fi legate de influența ambelor molecule pe funcțiile membranare, dar prin mecanisme diferite.

SAMe, ca sursă de grupări metil şi de grupări sulfhidrice, reglează fluiditatea membranei celulare şi stimulează sinteza compuşilor de detoxifiere. SAMe prezintă proprietatea de a reface fluiditatea membranei celulelor mononucleare din sângele periferic şi a structurii acesteia, alterate

Scanned with OKEN Scanner

de către CDCA. SAMe reduce sensibilittea faţă de agenţii toxici, efect dependent de o anumită proporţie între un acid biliar specific şi SAMe, astfel încât interacţiunea lor, mutuală şi cu membranele celulare să determine un efect optim.

SAMe nu are un efect semnificativ asupra inhibării produse de CDCA pe proliferarea celulelor mononucleare din sângele periferic şi pe secreţia de IFNγ, în schimb reface concentraţiile de IL-2 până la valori normale, indiferent de doza folosită. SAMe contracarează efectul inhibitor al CDCA pe secreţia de IL-2, deşi în absenţa CDCA, SAMe inhibă secreţia de IL-2. Este posibil ca efectul net funcţional al coincubării celulelor mononucleare din sângele periferic cu CDCA şi SAMe să fie consecinţa unor mecanisme diferite de acţiune ale fiecărui compus. Faptul că proliferarea celulelor mononucleare din sângele periferic a fost inhibată, în timp ce secreţia de IL-2 a fost restabilită la normal de către SAMe, ar putea fi explicat prin pleiomorfismul acţiunilor supresoare ale CDCA, dintre care unele nu sunt contracarate de către SAMe (de exemplu, inhibarea secreţiei IFNγ). De asemenea, este sugerată ipoteza conform căreia acţiunea imunomodulatorie a SAMe este limitată la funcţii specifice:

- proliferarea LyT, pe calea activării celulelor CD2;
- stimularea secreţiei de IL-2;

Mecanismele moleculare de acţiune implică numai parţial interacţiunea cu receptorii membranari ai LyT.

Modularea de către SAMe a Ag membranare ale celulelor mononucleare din sângele periferic afectează fie procentajul de celule pozitive, fie densitatea lor membranară: aceste efecte nu sunt niciodată asociate, sugerând, astfel, o diferenţiere şi, totuşi, o specificitate în interacţiunea cu fiecare Ag sau cu fiecare subset celular.

În afecţiunile hepatice cronice se constată imunodepresie, mai ales la pacienţii cu litiază biliară, iar acizii biliari joacă un rol major în deprimarea SI. SAMe prezintă efecte de contracarare a acţiunii imunosupresoare a CDCA care, alături de efectele anticolestatice, reprezintă suportul teoretic pentru beneficiul observat în cazul unor tratamente din ultima decadă cu acest medicament, la pacienţii cu ciroză. Pe lângă antagonizarea imunosupresiei indusă de litiază, s-a constatat şi o reducere a nivelurilor acizilor biliari în circulaţie. Cunoscând că o serie de mecanisme autoimune sunt implicate în patogenia cirozelor biliare primitive, a colangeitelor sclerozante primitive şi a hepatitelor autoimune, iar pe de altă parte faptul că SAMe scade secreţia de IL-2 şi exprimarea Ag HLA de clasă I şi II pe

Scanned with OKEN Scanner

limfocitele umane, rămâne de demonstrat semnificaţia imunofarmacologică şi clinică a unei posibile implicări a SAMe în terapia acestor afecţiuni.

19. AGONIŞTII RECEPTORILOR ADENOZINICI

• ***ADENOZINA*** prezintă următoarele **efecte** de tip imunomodulator [205]:

- inhibă reacţiile de transmetilare în monocite şi chemotaxia acestora [Pike M.C. şi colab., 1978; citaţi bibl. 205];
- stimulează secreţia activatorului plasminogenului, dar inhibă activitatea factorului procoagulant în macrofagele alveolare pulmonare [Hasday J.D. şi Sitrin R.G., 1985; citaţi bibl. 205], precum şi eliberarea fracţiei C_2 a complementului [Lappin D. şi Whaley K., 1984; citaţi bibl. 205].

• ***CGS-21 680*** este un agonist selectiv a receptorilor adenozinici A2, cu o densitate crescută la nivelul monocitelor [Lappin D. şi Whaley K., 1984; citaţi bibl. 205].

CGS-21 680 inhibă în proporţie de 75 % producţia de TNFα, în timp ce ***N6 (***agonist selectiv al receptorilor adenozinici A1) reduce producţia de TNFα doar în proporţie de 25 %.

Acţiunea CGS-21 680 este antagonizată de 3,7-dimetilpropargil-xantina (DMPX), un antagonist selectiv al receptorilor A2. Astfel, utilizarea agoniştilor selectivi ai receptorilor adenozinici A2 sau a compuşilor care determină eliberarea endogenă de Adenozină poate fi benefică în tratamentul bolilor mediate de TNFα.

20. METILXANTINELE

• ***TEOFILINA*** inhibă proliferarea, diferenţierea şi funcţiile nautrofilelor, macrofagelor, a celulelor NK şi a LyT. Inhibă degranularea mastocitelor, probabil printr-un mecanism de stabilizare lizozomală [249].

Teofilina prezintă şi efecte antiinflamatorii , care, alături de efectele bronhodilatatoare, o indică în terapia de urgenţă şi de fond a astmului bronşic (în doze de 400 mg/zi, la pacienţi cu forme medii de astm bronşic).

Scade nivelul eozinofilelor din plasmă şi spută. Nu apar diferenţe pre- şi post-tratament, în ceea ce priveşte capacitatea vitală (CV) sau volumul expirator forţat (VEF). Se sugerează un efect inhibitor al Teofilinei asupra activării eozinofilelor. Acest efect se realizează prin inhibarea proteinelor granulare din ţesutul lezat al căilor respiratorii superioare, proteine care activează eozinofilele tisulare: proteina cationică eozinofilă (ECP), proteina bazică majoră (MBP), eozinofil-peroxidaza (EPO). Aceste proteine

Scanned with OKEN Scanner

granulare produc creşterea hipersensibilităţii căilor respiratorii în cazul agresionării acestora de către alergene, exogene (polenul, toluen). Teofilina, prin inhibarea ECP, deprimă reacţiile de hipersensibilitate întârziată ale căilor respiratorii [Zimmerman B. şi colab., 1993; Miyoshi M. şi colab., 1991; Mapp C. şi colab., 1987; Andersson P. şi colab., 1985; Perruchoud A.P. şi colab., 1984; citaţi bibl. 249].

Dependent de doză, Teofilina scurtează perioada de viaţă a granulocitelor, prin accelerarea apoptozei *in vitro* [Yasui K.şi colab., 1997; citaţi bibl. 249], precum şi perioada de viaţă a eozinofilelor [249].

• ***PENTOXIFILINA*** prezintă următoarele **efecte farmacodinamice** pe componentele sistemului imunitar [60, 153, 157]**:**

- inhibă producţia de TNFα şi de GM-CSF;
- inhibă proliferarea celulelor K activate de anticorpi (celule AK);
- diminuă toxicitatea celulelor AK;
- inhibă sinteza de IL-2 de către LyT;
- inhibă proliferarea LyT;
- reduce exprimarea receptorilor CD 25, CD 3 şi CD 26 la nivelul limfocitelor T (în proporţie de aproximativ 83 %).

Efectele de mai sus ale Pentoxifilinei sunt similare cu cele produse de Rapamycin şi Leflunomide. Asocierea Pentoxifilinei cu Rapamycin sau cu Leflunomide produce un sinergism de potenţare [157].

Ştiind că citotoxicitatea mediată celular reprezintă un factor important în rejetul allografei [Sykes, 1996; citat bibl., 157], se poate sugera că Pentoxifilina (ca şi Rapamycin sau Leflunomide) poate fi folosită ca adjuvant pentru prevenirea rejetului allografelor.

De asemenea, este sugerată ipoteza utilizării Pentoxifilinei ca adjuvant în tratamentul bolilor autoimune [157].

De asemenea, Pentoxifilina prezintă importante efecte antiinflamatorii, realizate prin următoarele mecanisme moleculare de acţiune:

- inhibarea adeziunii şi agregării leucocitelor în ţesutul inflamat;
- inhibarea degranulării şi eliberării de radical superoxid de către leucocite;
- inhibarea sintezei de TNFα de către monocite [Samlaska şi Winfield, 1994; citaţi bibl. 60];
- interacţiunea cu diferite celule inflamatorii, incluzând fibroblastele [Bermann, Wietzerbin, Sanceau, Merlin şi Duncan, 1992; Entzian şi colab., 1997 b; citaţi bibl. 60];
- inhibă sinteza colagen-indusă a TGFβ de către fibroblaste.

Scanned with OKEN Scanner

Fără a afecta fibrogeneza, Pentoxifilina inhibă producţia de colagen fibroblastic, sinteza de glucosaminoglican şi fibronectină, creşte activitatea colagenazei [Bermann şi colab., 1992; Entzian şi colab., 1997 b; citaţi bibl. 60], inhibă proliferarea fibroblastică [Peterson, 1993; Entzian şi colab., 1997 b; citaţi bibl. 60].

Datele experimentale sugerează ipoteza utilizării Pentoxifilinei în terapia alveolitelor fibrozante umane, compusul având avantajul unor efecte adverse minore, comparativ cu glucocorticosteroizilor. Pentoxifilina poate fi indicată pentru profilaxia efectelor adverse fibrozante pulmonare produse de tratamentul cu Bleomicină al neoplaziilor. În acest context, efectul Pentoxifilinei este mai puternic decât efectele produse de Colchicină şi Prednisolon [60].

Relativ recent, s-a demonstrat eficienţa Pentoxifilinei în terapia sarcoidozei [Zabel, Entzian, Dalhoff şi Schlaak, 1997; citaţi bibl. 60].

Efectele Pentoxifilinei de inhibare a TNFα sunt de 4 ori mai puternice decât cele ale Teofilinei [Semmler şi colab., 1993; citaţi bibl. 60] sau decât cele ale unui inhibitor de TNFα recent descris: A 802 715 [Zabel, Bitter - Suermann, Entzian, Ernst şi Schlaak, 1996; citaţi bibl. 60]. Nu s-a stabilit încă derivatul xantinic optim pentru inhibarea proceselor de fibroză.

21. INHIBITORII DE FOSFODIESTERAZĂ [142]

Fosfodiesterazele sunt izoenzime care controlează nivelurile catabolismelor mesagerilor secunzi intracelulari, AMPc şi GMPc. Fiecare din aceste familii de fosfodiesteraze posedă un substrat specific şi o reglare distincte (tabel 2).

Tipuri PDE	*Surse celulare*	*Concentraţi a celulară a PDE*	*Factori stimulatori ai PDE*	*Factori inhibitori ai PDE*	*Ţinte de acţiune ale PDE*
1.	(?)	-	Calmodulina	-KS 505a -VINPOCETINE	AMPc ≤ GMPc
2.	(?)	-	niveluri crescute de GMPc	EHNA	AMPc = GMPc
3.	- monocite umane - macrofage umane - macrofage cobai	- scăzută - crescută - crescută - scăzută - scăzută - crescută - crescută	(?)	GMPc (nivel crescut) MILRINONE CILOSTAMINE CILOSTAZOL ENOXIMONE SK şi F 94-120 SK şi F 94836 (SIGUAZODAN)	AMPc > GMPc

Scanned with OKEN Scanner

	- mastocite şobolan - bazofile de om - LyT umane - plachete umane			ORG 9935 AH-21-132 (BENZAFEN-TRINE) ORG-30029 ZARDAVERINE ORG 20241	
4.	- PMN umane - monocite umane - macrofage umane - macrofage şoarece - macrofage cobai - mastocite şobolan - bazofile umane - eozinofile umane LyT umane Plachete umane	crescută	Citokine proinflamatorii (exemplu, în dermatita atopică, astmul bronşic)	ROLIPRAM Ro 20 – 1724 DENBUFY-LLINE TIBENELAST WAY-PDA-641 RP-73401 NCS 613 CDP 840 SB 207 499 (ARIFLO) AH-21-132 (BENZAFEN-TRINE) ORG-30029 ORG-20241 ZARDAVERINE	Hidrolizează specific AMPc în 5'-AMP (AMPc>>> >>GMPc)
5.	- monocite umane - LyT umane	scăzută	(?)	ZAPRINAST SK şi F 96231 DIPIRIDAMOL	Hidrolizează specific GMPc în 5'-GMP (GMPc>>> >AMPc)
6.	acţiune pe fotoreceptori	-	(?)	DIPIRIDAMOL ZAPRINAST	AMPc<<< GMPc
7.	LyT umane	scăzută	(?)	nu există	Hidrolizează specific AMPc în 5' –AMP (AMP>>>> GMPc)

Tabel 2. Izoenzimele PDE. Tipuri, substrat specific, surse celulare, stimulatori şi inhibitori ai PDE
(Schemă modificată, după Nicholson C.D. şi colab., 1994 şi Torphy T.J., 1998, citaţi bibl. 142)

Scanned with OKEN Scanner

S-au cercetat inhibitorii selectivi ai PDE, tipurile 3, 4 şi 5, studiindu-se consecinţele utilizării acestora asupra ţesuturilor în care enzimele respective se găsesc în concentraţii crescute [142].

PDE, tipurile 3 şi 4 sunt principalele izoenzime responsabile de hidroliza AMPc, în timp ce PDE, tipul 5, este specifică pentru hidroliza GMPc. Datorită activităţii lor modulatorii asupra catabolismului nucleotidelor ciclice, inhibitorii PDE prezintă o activitate antiinflamatorie, precum şi una bronhodilatatoare. Se pare că izoenzimele PDE sunt codificate de cel puţin 15 gene prezente în genomul celulelor de mamifere. Pe baza similitudinilor de structură şi de funcţie, aceste gene pot fi grupate în 7 familii. Majoritatea acestor familii cuprind două sau mai multe subfamilii, care corespund unor gene "puternic" omologe, dar distincte. Identitatea secvenţei între membrii unei aceeaşi familii este mai mare de 70 %. Între fiecare dintre aceste familii, identitatea secvenţei este de aproximativ 30-55 %. Această identitate a secvenţei între diferitele familii ale PDE are drept componentă esenţială pe o regiune, aproximativ 270 aminoacizi. Au fost clonate *4 izogene* prezente la şobolani şi la oameni: *PDE4A, PDE4B, PDE4C şi PDE4D* [Bolger G. şi colab., 1993; Engels P. şi colab., 1994; Alvarez R. şi colab., 1995, citaţi bibl. 142]. Toate aceste izoforme prezintă o importantă omologie pentru situsul catalitic al enzimei, dar această omologie este mai mică la nivelul secvenţelor N- şi C-terminale. Aceste date sugerează că o celulă poate să conţină unul sau mai multe subtipuri ale PDE_4, care pot să se întâlnească în diferite situsuri intracelulare.

Caracteristicile subtipurilor PDE_4, expresiile lor şi reglarea transcripţiilor lor, pot să antreneze o variaţie importantă a degradării AMPc, în diferite compartimente celulare. Astfel, o regiune de 132 aminoacizi, prezentă în PDE4D, poate fi fosforilată de subunitatea catalitică a protein-kinazei dependente de AMPc (PKA) [Settec şi colab., 1994, citaţi bibl. 142].

Celulele proinflamatorii care sunt în modul cel mai clar implicate în patogenia astmului sunt reprezentate de: mastocite, macrofage, LyT, PMN şi eozinofile. Un rol egal în inflamaţie îl prezintă: bazofilele, monocitele, plachetele şi celulele endoteliale. Cu excepţia plachetelor, în care predomină PDE_3 şi PDE_5, PDE_4 pare să fie izoenzima cu rol major în hidrolizarea AMPc pentru a forma 5'-AMP în toate celulele proinflamatorii, ceea ce determină creşterea importanţei acestei izoenzime în manifestările alergice.

Activitatea PDE_4 este reglată de variaţiile concentraţiei intracelulare ale AMPc. S-a demonstrat, astfel, că o creştere prelungită a nivelului AMPc, ca urmare a unei stimulări a receptorilor adrenergici sau datorită unui blocaj

Scanned with OKEN Scanner

specific al PDE_4 sub acţiunea Rolipram, conduce la o creştere a expresiei genei ce codifică PDE_4 într-o linie de celule promonocitare (U 937) [Murray K.J. şi colab., 1993, citaţi bibl. 142]. Această reglare poate fi datorată activării factorilor de transcripţie, care ar putea activa promotorul genei. Rezultatul ar putea avea o importanţă terapeutică, în sensul că un tratament cronic cu un inhibitor de PDE_4 antrenează o creştere a expresiei acestei izoenzime. Reglarea expresiei PDE_4 a fost, de asemenea, observată în cursul simptomelor din procesele inflamatorii, în sensul că aceasta este indusă de citokine. O creştere a activităţii PDE_4 a fost pusă în evidenţă în monocitele circulante provenind de la pacienţi cu dermatită atopică [Chan S.C. şi colab., 1993, citaţi bibl. 142]. Dacă inducerea expresiei PDE_4 apare în celulele proinflamatorii ale pacienţilor astmatici, în mod sigur aceasta reprezintă un răspuns la citokinele proinflamatorii, ca rezultat al unei diminuări a nivelului intracelular a AMPc (conducând la o creştere a eliberării de mediatori ai inflamaţiei şi la o reducere a potenţialului răspunsului la stimulantele β2-adrenergice folosite în tratamentul astmului bronşic. În ultimii ani, ***inhibitorii selectivi de PDE*** se impun tot mai mult în tratamentul astmului bronşic şi al altor afecţiuni inflamatorii. Importanţa lor este legată de două aspecte, şi anume:

- în primul rând, inhibiţia activităţii PDE, produce creşterea conţinutului celular al celor doi mesageri secunzi cheie (AMPc şi GMPc), conducând la o mare varietate de răspunsuri funcţionale; creşterea conţinutului în AMPc suprimă o mare parte din funcţiile celulelor proinflamatorii/imunitare; în plus, AMPc şi GMPc provoacă o dilataţie a fibrei musculare netede a căilor respiratorii;
- în al doilea rând, se ameliorează profilul efectelor secundare, care sunt determinate de inhibitorii neselectivi ai PDE, fiind evident faptul că PDE_3, PDE_4 şi, posibil, PDE_5 sunt izoenzimele cheie în procesele inflamatorii, inclusiv cele alergice.

Din cele 7 izoenzime PDE, ***PDE_4*** este larg reprezentată în celulele proinflamatorii activate în cursul astmului bronşic. De aceea, nu trebuie să surprindă faptul că inhibitorii selectivi de PDE_4 suprimă funcţiile diferitelor tipuri celulare implicate în alergie şi alte afecţiuni inflamatorii. Inhibitorii PDE_4 şi inhibitorii micşti PDE_3/PDE_4 posedă, astfel, acţiuni bronhodilatatoare şi antiinflamatoare, atât pe modelele experimentale la animale, cât şi la om.

În acelaşi timp, un obstacol major în dezvoltarea inhibitorilor PDE_4, îl constituie dificultatea eliminării efectelor adverse, între care, cele

Scanned with OKEN Scanner

emetizante deţin un loc primordial [Nicholson C.D. şi colab., 1994, citaţi bibl. 142].

Trebuie notat faptul că majoritatea inhibitorilor selectivi ai PDE sunt antagonişti competitivi pe situsul activ al substratului şi la un număr redus dintre ei poate fi luată în discuţie acţiunea pe un situs allosteric.

Nu există încă inhibitori selectivi ai izoenzimei PDE_7. Această izoenzimă este rezistentă la acţiunea tuturor inhibitorilor cunoscuţi şi, de asemenea, la acţiunea compuşilor neselectivi, cum ar fi: 3-izobutil-1-metilxantina (IBMx) [Mchaeli T. şi colab., 1993 şi Ichimura M. şi colab, 1993, citaţi bibl. 142].

Inhibitorii de PDE_4 prezintă următoarele ***efecte farmacodinamice*** asupra ***celulelor proinflamatorii ale SI***:

a) ***bazofile***: inhibă eliberarea de Histamină şi LT;
b) ***LyB***: inhibă producţia de IgE;
c) ***eozinofile***: inhibă producţia CD11b, producţia anionului superoxid, chemotactismul, degranularea;
d) ***macrofagele***: inhibă producţia de TNF-α;
e) ***mastocite***: inhibă producţia de Histamină;
f) ***monocite***: inhibă producţia de TNF-α, LT, eliberarea acidului arahidonic;
g) ***neutrofile***: inhibă adeziunea, inhibă expresia CD11b, producţia de LT, lizozin, mieloperoxidaze, anion superoxid, PAF;
h) ***LyT***: inhibă proliferarea, inhibă producţia de GM-CSF, IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 şi IFN-γ;
i) ***celule endoteliale***: inhibă permeabilitatea, expresia moleculelor de adeziune, aderenţa neutrofilelor.

Astfel, s-a demonstrat experimental că inhibitorii selectivi de PDE_4 prezintă importante ***efecte antiinflamatoare pulmonare***:

- inhibă bronhoconstricţia Ag indusă (la cobai, iepure, maimuţă);
- inhibă/scad hiperreactivitatea bronşică la cobai, maimuţă (indusă de Ag, ozon, PAF);
- inhibă recrutarea şi activarea macrofagelor, Ag induse (la cobai);
- inhibă recrutarea eozinofilelor (indusă de Ag, PAF, IL-5, leucotriene) la cobai, maimuţă, iepure, şobolan;
- inhibă recrutarea PMN (indusă de endotoxine), la cobai, şobolani, şoareci;
- inhibă permeabilitatea anormal crescută la nivelul barierei microvasculare postcapilare, indusă de Ag, Histamină, PAF, endotoxină, la cobai, pentru celulele sanguine şi macromolecule, blocând, astfel, formarea

Scanned with OKEN Scanner

edemului la nivelul mucoasei bronşice; inhibitorii de PDE_4 participă, astfel, la diminuarea formării edemului tisular şi la scăderea infiltraţiei celulelor proinflamatorii, evitând alterarea funcţională a căilor respiratorii.

Tratamentul combinat cu un inhibitor de PDE_3 şi un inhibitor de PDE_4 pare mult mai eficient [Germain N. şi colab., 1998, citat bibl. 142], aceste date fiind explicabile prin prezenţa izoenzimelor PDE_3 şi PDE_4 în macrofage (în concentraţii mult mai mari decât în monocite). Aceasta ar putea explica acţiunea inhibitorilor PDE_3 asupra hiperreactivităţii bronşice [date nepublicate, citat bibl. 142], cunoscîndu-se faptul că dezvoltarea la cobaiul sensibilizat a acestei hiperreactivităţi este legată de activarea macrofagului alveolar.

Un număr mare de afecţiuni din patologia umană este asociat cu o supraproducţie de TNF-α: artrita reumatoidă, şocul septic, SIDA. Aceste patologii sugerează că inhibitorii de PDE_4 pot avea un potenţial considerabil în terapia acestor afecţiuni. Pe de altă parte, datele experimentale şi clinice în aceste domenii sunt reduse. Inhibarea eliberării de TNF-α şi reducerea inflamaţiei s-ar putea datora în mod egal unei creşteri a eliberării de IL-10, o citokină antiinflamatorie. Studii recente demonstrează că Rolipram creşte eliberarea de IL-10 de către monocitele/macrofagele (stimulate de endotoxina bacteriană) [Kambayashi T. şi colab., 1995; Platzer C. şi colab., 1995 şi Eigler A. şi colab., 1998, citaţi bibl. 142]. Pe de altă parte, tratamentul experimental al şoarecilor cu anticorpi anti-IL-10 suprimă activitatea inhibitorie a Rolipramului asupra eliberării de TNF-α [Eigler A. şi colab., 1998, citaţi bibl. 142].

În **activitatea antiinflamatorie a inhibitorilor de PDE_4 *in vivo,*** pot interveni diferite ***mecanisme celulare:***

- inhibarea eliberării mediatorilor proinflamatori şi a citokinelor;
- inhibarea activării leucocitelor (inhibarea degranulării, inhibarea eliberării radicalilor liberi de oxigen);
- inhibarea recrutării leucocitelor;
- inhibarea expresiei şi reglării moleculelor de adeziune;
- stimularea eliberării citokinelor cu activităţi antiinflamatorii (de exemplu, IL-10);
- stimularea apoptozei celulelor proinflamatorii;
- stimularea eliberării steroizilor endogeni şi a catecolaminelor.

Inhibitorii selectivi de PDE_4 pot să moduleze permeabilitatea vasculară Ag-indusă, la cobaii sensibilizaţi. În plus, stimularea adenilat-ciclazei de o doză mică de Salbutamol în monoterapie nu induce

Scanned with OKEN Scanner

inhibarea extravazării plasmatice, dar potențează selectiv, de 3-10 ori, activitatea inhibitorilor de PDE_4.

Inhibitorii de PDE_4 ***modulează eliberarea de neuropeptide*** conținute în terminațiile nervoase senzoriale ale căilor respiratorii, putând, astfel, să moduleze inflamația neurogenică [Qian Y. şi colab., 1994, citați bibl. 142]. Astfel, s-a demonstrat experimental că inhibitorii de PDE_3 (***SK*** şi ***F 94 836***), inhibitorii de PDE_3/PDE_4 (***BENZAFENTRINE***), inhibitorii de PDE_4 (***Ro 20-1724***) şi inhibitorii de PDE_5 ***(ZAPRINAST)*** modulează răspunsul contractil necolinergic şi neadrenergic al bronşiei izolate de cobai, confirmându-se intervenția acestor compuşi asupra eliberării de neuropeptide endogene. Unul dintre mecanismele implicate în inhibarea dezvoltării hiperreactivității bronşice prin aceşti compuşi ar putea consta în inhibarea eliberării de tahikinine. Într-adevăr, utilizarea antagoniştilor selectivi pentru tahikinine a demonstrat clar inhibarea dezvoltării hiperreactivității Ag-induse la cobaiul sensibilizat [Advenier C. şi colab., 1997, citați bibl. 142].

Efectele adverse ale inhibitorilor de PDE_4 sunt următoarele:

- grețuri;
- diaree;
- creşterea secreției acide gastrice;
- stimularea SNC.

Există date experimentale care sugerează că inhibitorii selectivi ai PDE_4, cu structuri diferite de Rolipram (inhibitori ai PDE_4 de generația a II-a şi a III-a), nu produc o creştere a secreției acide gastrice şi prezintă, în general, efecte secundare mult atenuate față de acelea ale Rolipramului [Barnette M.S. şi colab., 1995; 1998 şi Boichot E. şi colab., 1998, citați bibl. 142].

• ***ROLIPRAM*** este un inhibitor puternic selectiv al PDE_4, la situsul catalitic (Ki = 1-2 micromoli). El se leagă stereoselectiv şi prezintă o afinitate crescută (Kd = 1-2 nM) pentru un situs distinct de legare. Astfel, situsul de legare al Rolipram şi situsul catalitic al enzimei sunt entități distincte, dar asociate la aceeaşi proteină. Relația funcțională între PDE_4 şi situsul de legare de înaltă afinitate al Rolipram rămâne obscură.

Datele din literatură afirmă că activitatea antiinflamatorie asupra unor țesuturi este dependentă de situsul de legare al Rolipramului, care controlează şi profilul efectelor secundare (efecte pe SNC şi pe tractul gastro-intestinal, în special) [Barnette M.S. şi colab., 1995, citați bibl. 142]. Pe de altă parte, efectele inhibitorii asupra degranulării mastocitelor sau de inhibare a producției de anioni superoxid de către eozinofilele de cobai, se

Scanned with OKEN Scanner

pare că sunt legate de capacitatea acestui compus de a inhiba situsul de joasă afinitate al PDE. Trebuie notat faptul că unele ţesuturi sunt bogate în PDE cu situs de înaltă afinitate, faţă de altele, cu PDE cu situs de joasă afinitate [Schneider şi colab., 1986, citaţi bibl. 142]. De asemenea, gradul de inhibare a situsului de joasă afinitate de către unii compuşi inhibitori ai PDE_4 este diferit de gradul de inhibare a situsului de înaltă afinitate [Torphy T.J. şi colab., 1992, citaţi bibl. 142]. Una dintre posibilităţile de ameliorare ale indicelui terapeutic mic, ale inhibitorilor de PDE_4 ar putea fi, deci, realizată, după determinarea activităţii lor relative pe situsul de înaltă sau de joasă afinitate.

Inhibitorii PDE_4 prezintă o importantă acţiune antiinflamatorie în afecţiunile inflamatorii alergice (cum ar fi, astmul bronşic) şi în inflamaţiile legate de o infecţie bacteriană (cum ar fi: şocul septic sau sindromul de detresă respiratorie acută).

Rolipram inhibă total hiperreactivitatea bronşică indusă experimental de aerosoli cu PAF, în timp ce Teofilina o inhibă doar parţial [Underwood S.L. şi colab., 1992, citaţi bibl. 142]. Rolipram şi inhibitorii selectivi de PDE_3 (***CI-930***) sunt capabili să prevină dezvoltarea hiperreactivităţii bronşice, independent de activitatea lor bronhodilatatoare. Inhibitorii de PDE_3 previn hiperreactivitatea bronşică la doze care nu produc şi bronhodilataţie, în timp ce inhibitorii de PDE_4 realizează aceste efecte la doze ce produc şi bronhodilataţii [Howell R.E. şi colab., 1993, citaţi bibl. 142].

Rolipram inhibă producţia LPS-indusă a TNFα de către monocitele umane, fără a afecta producţia de IL-1β şi de IL-6 [204].

Rolipram se află în stadiul de experiment clinic.

• ***Ro 20-1724*** este un inhibitor selectiv de PDE_4, care reduce sinteza de IgE de către PMN la bolnavii cu dermatite atopice. Reduce nivelurile de IL-4 (care sunt crescute în dermatita atopică) [142].

S-au citat şi alte ***implicaţii terapeutice ale inhibitorilor de PDE_4 şi de PDE_3 :***

- ***CDP 840*** (inhibitor de PDE_4) produce efecte benefice asupra fazei tardive după provocarea antigenică la un pacient cu astm bronşic [Harbinson P.L. şi colab., 1997, citaţi bibl. 142];

- ***CILOSTAZOL*** (inhibitor selectiv de PDE_3) inhibă hiperreactivitatea bronşică la pacienţii astmatici [Fujimura M. şi colab., 1997, citaţi bibl. 142];

- ***MKS 492*** (inhibitor de PDE_3) reduce faza precoce şi atenuează faza tardivă după un contact Ag la pacienţii astmatici [Bardin P.G. şi colab., 1998, citaţi bibl. 142].

Scanned with OKEN Scanner

Inhibitorii de PDE_3 ar putea fi, deci, utilizaţi în terapie, datorită capacităţii lor de inhibare a hiperreactivităţii bronşice la astmatici.

22. BLOCANŢII DE CANALE DE CALCIU

• ***VERAPAMIL-ul*** suprimă eliberarea de IL-2, proliferarea şi activarea LyTc [148].

• ***NIFEDIPINA*** scade producţia de oxid nitric a macrofagelor [134].

23. GLICOZIZII CARDIOTONICI ŞI ALTE SUBSTANŢE INDICATE ÎN TRATAMENTUL INSUFICIENŢEI CARDIACE

• ***OUABAINA***, inhibitor specific al Na^+-K^+-ATP-azei, descoperit recent ca un component endocrin al plasmei umane, inhibă generarea activităţii celulelor LAK şi suprimă proliferarea PHA-indusă a limfocitelor T şi B [196]. Acest compus blochează fazele G I - S ale ciclului celular. Procesul nu influenţează exprimarea CD 25 la nivelul limfocitelor. În schimb, în culturile de limfocite activate cu Forbol-ester, Ouabaina creşte expresia CD 25. Atât la culturile activate cu PHA, cât şi la cele activate cu Forbol-ester, Ouabaina stimulează expresia antigenului limfocitar CD 69, aceasta sugerând că, în pofida absenţei răspunsului proliferativ, limfocitele au fost activate. Inducerea expresiei CD 69 este stimulată pe calea protein-kinazei C sau a tirozin-kinazei, în funcţie de stimulii utilizaţi.

Ouabaina inhibă lanţul α al receptorilor limfocitari pentru IL-2 [196].

• ***VESNARINONE (OPC-8212)*** este un medicament inotrop pozitiv, aflat în stadiile experimentului clinic pentru tratamentul insuficienţei cardiace congestive [Feldman şi colab., 1993; citaţi bibl. 120]. Din punct de vedere al structurii chimice, este un derivat de 3,4-dihidro-6[4-(3,4-dimetoxibenzoil)-1-piperazinil]-2-chinolinonă.

Mecanismul molecular de acţiune al compusului Vesnarinone constă în inhibarea fosfodiesterazei cardiace tip 3 [Rapundalo şi colab., 1988; citaţi bibl. 120].

Dependent de doză, acest compus inhibă eliberarea TNFα şi scade eliberarea IL-6 de către macrofage, fără a afecta eliberarea de IL-1α, IL-10 şi LIF [120]. Nu afectează nici eliberarea de NO din macrofagele de şoarece şi de om [143]

Vesnarinone inhibă biosinteza de TNFα de către celulele sinoviale aderente, la pacienţi cu artrită reumatoidă. Este sugerată, astfel, ipoteza că acest compus, dependent de doză, poate fi folosit ca adjuvant pentru inhibarea eliberării de TNFα, în şocul septic, artrita reumatoidă, scleroza multiplă, etc [120].

Scanned with OKEN Scanner

Aceste date se înscriu în cadrul cercetărilor pentru caracterizarea şi clasificarea compuşilor care inhibă eliberarea citokinelor proinflamatorii, incluzând şi TNFα. Aceşti compuşi pot fi împărţiţi în două categorii [120]:

a. inhibitori neselectivi ai eliberării citokinelor proinflamatorii: DEXAMETAZON;
b. inhibitori selectivi ai eliberării TNFα: THALIDOMIDA, ROLIPRAM (inhibă eliberarea de TNFα şi IL-10).

În plus, Vesnarinone inhibă replicarea HIV-1 în cultură [Maruyama şi colab., 1993; citaţi bibl. 120], iar la concentraţii mari reduce transportul nucleozidului şi nucleobazei în diferite tipuri celulare [Kamakura şi colab., 1995; citaţi bibl. 120]. Vesnarinone inhibă TNFαARNm, dar nu modifică semnificativ nivelurile IL-10ARNm. Rămâne de elucidat dacă Vesnarinone afectează stabilitatea TNFαARNm prin accelerarea degradării sau reglează direct TNFαARNm [120].

Datele experimentale arată că Vesnarinone inhibă eliberarea de TNFα nu numai de către fagocitele mononucleare, ci şi de către splenocite [Matsui şi colab., 1994; citaţi bibl. 120], precum şi de către limfocitele T umane [Shioi şi colab., 1993; citaţi bibl. 120]. Datele experimentale demonstrează, de asemenea, că Vesnarinone blochează leziunile hepatice mediate imunologic, acest efect realizându-se, parţial, prin scăderea/inhibarea eliberării de TNFα de către macrofagele de şoarece *in vivo* [143]. Astfel, acest compus prezintă următoarele efecte benefice asupra evoluţiei unei hepatite induse experimental la şoarece, prin administrarea injectabilă de ConA [143]:

- reduce semnificativ nivelurile circulatorii de TNFα;
- scade concentraţiile serice ale transaminazelor;
- reduce distrucţia hepatocelulară (diminuează apoptoza hepatocitelor).

În plus, Vesnarinone protejează hepatocitele faţă de leziunile induse experimental cu agonişti ai receptorilor pentru TNFα [Osagawara J. şi colab., 1993; citaţi bibl. 143].

24. ANTIARITMICELE

• ***PROCAINAMIDA***, în administrare cronică, poate induce fenomene "autoimune" de tipul lupusului eritematos sistemic, cu formarea de celule lupice (celule LE) [148].

Scanned with OKEN Scanner

25. VASODILATATOARE CU ACȚIUNE DIRECTĂ PE MUSCULATURA NETEDĂ VASCULARĂ

• ***HIDRALAZINA***, în administrare cronică, poate induce lupus eritematos sistemic, cu formare de Ac antinucleu [148].

26. ANTIBIOTICELE, SULFONAMIDELE, ANTIFUNGICELE, ANTIPROTOZOARELE [136, 137, 138, 138, 140, 141, 146, 148, 187, 246,]

Modificatorii răspunsului biologic (BRM) deschid o nouă eră în tratamentul infecției. În acest sens, au fost cercetate efectele unor antibiotice/chimioterapice asupra SI [Finch, 1980; Hauser și Remington, 1982; Mandell, 1982; Milatovic, 1983; Daschner, 1985, citați bibl. 141].

Din punctul de vedere al efectelor de tip imunomodulator, antibioticele/chimioterapicele pot fi clasificate în patru grupe [141]:

a) antibiotice care nu modifică mecanismele de apărare ale gazdei: cele mai multe antibiotice β-lactamice, aminoglicozidele în doze obișnuite;

b) antibiotice care deprimă funcțiile imune *in vitro* și/sau *ex vivo*: tetraciclinele, Rifampicina, Eritromicina (antibiotic din grupa macrolide), Cloramfenicolul și sulfonamidele;

c) agenții antibacterieni care acționează sinergic cu SI: Roxitromicina (antibiotic din grupa macrolide) și chinolonele;

d) agenți antibacterieni care cresc funcția imună, atât la indivizii sănătoși, cât și la pacienții imunocompromiși, incluzând compușii biologici sau derivații de sinteză care cresc sau refac mecanismele apărării imune deteriorate, cresc răspunsul gazdei la vaccinuri și la agenții chimioterapeutici, îndeplinind criteriile BRM [Talmadge, Oldham și Fidler, 1984, citați bibl. 141]:

d.1. nu deprimă factorii apărării naturale *in vitro*, *ex vivo* sau *in vivo* (cum ar fi: funcțiile de eliberare a mediatorilor de către fagocite și limfocite, activitatea fracțiilor complementului sau activitatea opsoninelor serice și maturarea celulelor progenitoare);

d.2. cresc efectele bactericide ale componentelor celulare și umorale ale apărării imunitare;

d.3. scad virulența bacteriilor și/sau cresc sensibilitatea lor la mecanismele bactericide naturale;

d.4. restabilesc imunocompetența gazdelor imunocompromise pentru clearance-ul bacterian.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru antibiotice, criteriile BRM ale definiţiei de mai sus sunt interpretate în contextul unor boli infecţioase. În acest context, cefalosporinele, cum ar fi Cefodizime (o amino-2-tiazolil-cefalosporină) prezintă importante acţiuni imunomodulatorii.

Antibioticele/chimioterapicele pot avea următoarele **efecte asupra sistemului imunitar**:

- efecte citotoxice directe asupra LyT şi a LyB (***CLORAMFENICOLUL, TETRACICLINELE, STREPTOMICINA*** în doze mari);
- mascarea receptorilor limfocitari pentru recunoaşterea Ag (***ERITROMICINA, COLIMICINA, CLORAMFENICOLUL);***
- scăderea activităţii stimulatoare a LyTh (***ERITROMICINA***);
- exacerbarea activităţii frenatoare a LyTs (***CLORAMFENICOLUL***);
- mascarea receptorilor celulei ţintă pentru celulele NK activate şi inhibarea citotxicităţii naturale a celulelor NK (***CLORAMFENICOLUL***);
- potenţarea răspunsului proliferativ, PHA-indus, al amestecului de limfocite (***AMINOGLICOZIDELE***, în doze obişnuite).
- scăderea/inhibarea motilităţii şi a chemotaxiei celulelor fagocitare printr-un mecanism de "dezorganizare" membranară (Amphotericina), sau prin mecanisme neelucidate încă (***CLORAMFENICOLUL, RIFAMPICINA, TETRACICLINELE***);
- deteriorarea mecanismelor oxidative ale celulelor fagocitare, prin inhibarea mieloperoxidazelor (***SULFONAMIDELE***);
- interferarea cu eliberarea radicalilor liberi de către PMN (***METRONIDAZOLUL***);
- inhibarea antigen-indusă a producţiei de TNFα de către monocitele umane (***POLIMIXINA B***).

PENICILINELE naturale şi de semisinteză nu influenţează componentele sistemului imunitar (cu excepţia reacţiilor alergice de tip I, mediate de IgE, care pot apare la persoanele susceptibile).

ISONIAZIDA (HIN), administrată în scheme terapeutice lungi, poate induce fenomene "autoimune" de tipul lupusului eritematos sistemic.

ROXITROMICINA este un antibiotic din grupa macrolidelor, care reface activitatea fagocitară a PMN şi efectele bactericide ale acestora, la pacienţi imunodepresaţi cu retardare mentală. Acest compus reface exprimarea CD11b la suprafaţa PMN [246].

Scanned with OKEN Scanner

CEFODIZIME produce următoarele efecte imunomodulatorii [118, 136, 137, 138, 139, 140, 141]:

a) produce creşterea mecanismelor naturale de apărare antibacteriană, în special la organismele imunocompromise (experimental, la animale de laborator, infectate cu *Candida albicans* sau *T. gondii*);

b) scade virulenţa diferitelor specii bacteriene şi creşte sensibilitatea lor la acţiunea fagocitelor sau a complementului seric;

c) *ex vivo*, creşte funcţiile fagocitelor şi ale limfocitelor la voluntarii umani sănătoşi şi reface variaţi parametri imunitari la animalele imunocompromise sau la pacienţii imunocompromişi.

Proprietăţile imunomodulatorii sunt dependente de doză (care poate fi diferită de doza ce conferă proprietăţi antibacteriene acestui compus). De asemenea, rămâne problema cronobiologiei efectelor observate în unele sisteme experimentale.

Există diferenţe privind căile prin care se realizează aceste efecte ale Cefodizime:

- stimularea fagocitelor este obţinută *ex vivo* şi *in vitro* la animale de laborator (mai puţin la unele tulpini de şoareci) şi la om, ca şi la animale sau persoane imunocompromise;
- prin contrast, răspunsurile LyB (dar nu şi cele ale LyT) sunt crescute *ex vivo* (dar nu *in vitro*) şi depind de tulpina de şoarece;
- în mod similar, creşterea limfocitelor ca răspuns la Cefodizime depinde de linia celulară utilizată în experimente, iar diferitele funcţii specifice ale acestora sunt evident crescute la oameni şi la animale imunocompromise, dar nu la oameni şi la animale sănătoase.

Aceste date sugerează că în realizarea sensibilităţii la Cefodizime sunt implicaţi receptori celulari specifici şi linii celulare specifice ale SI. Discrepanţa între datele *in vitro* şi *in vivo* sau *ex vivo* susţine, de asemenea, ipoteza că după administrarea de Cefodizime sunt eliberaţi mediatori solubili.

S-a constatat că multe alte ***cefalosporine***, la concentraţii subinhibitorii, cresc sensibilitatea agenţilor patogeni la mecanismele bactericide naturale [Gemmell C.G., 1984; Watanabe Y. şi colab., 1986, Labro M.T. şi colab., 1987 b, citaţi bibl. 141], chiar în cazul unor microorganisme rezistente [139] şi/sau cresc activitatea stimulatorie a acestor agenţi patogeni faţă de metabolismul oxidativ al fagocitelor. Aceasta ar putea fi consecinţa alterării structurale a bacteriilor, cu expunerea *neoantigenelor* sau a situsurilor complementului [Kadurugamuwa J.L. şi colab., 1985, citaţi bibl. 141].

Scanned with OKEN Scanner

S-a constatat o activitate directă bactericidă a fagocitelor după administrarea altor două cefalosporine, de generația a III-a, ***CEFPIMIZOLE*** și ***CEFOTAXIME***. Se pare că, prin alte mecanisme intime la nivel molecular decât cele ale Cefodizime, Cefpimizole eliberează mediatori din macrofage, care stimulează neutrofilele [187], în timp ce la Cefotaxime "primează" răspunsul oxidativ al neutrofilelor umane la un stimul secundar, numai atunci când particulele sunt opsonizate de către fracțiile C_{3b} sau iC_{3b} ale complementului seric [136, 137]. Din punct de vedere al răspunsului imun specific, numai Cefotaxime potențează variați parametri ai SI la șoareci, acest aspect fiind legat de creșterea producției de IL-1 și scăderea sensibilității limfocitelor la PGE_2, un factor supresor imunitar [77, 78]. Totuși, modelele *in vivo,* pe animalele normale sau imunocompromise și infectate experimental, demonstrează clar că Cefodizime este singura cefalosporină care "cooperează" cu SI al gazdei, în privința "competenței" bactericide și a refacerii acestui parametru [141].

Comparativ cu o moleculă care acționează strict ca un imunomodulator, ***un compus care combină un efect bactericid direct cu activitatea imunostimulatorie prezintă un interes deosebit pentru terapie***, cele două efecte ale sale exercitându-se în cadrul aceloraşi limite de concentrații și respectând aceeași schemă de administrare.

FLUCONAZOL. Este un compus triazolic folosit în terapia infecțiilor fungice, în special a infecțiilor fungice sistemice [146]. Administrarea experimentală de Fluconazol, la șoareci, pe cale orală, în doză de 2,5-5 mg/kg corp/zi, timp de 3-28 zile, nu influențează greutatea timusului și a splinei și nici numărul timocitelor sau al celulelor splenice, ceea ce sugerează că acest compus nu prezintă efecte imunosupresoare *in vivo*. Aceste rezultate conduc la ipoteza posibilității de a utiliza Fluconazol la bolnavii imunodepresați cu infecții fungice (spectrul antifungic fiind reprezentat de *Blastomyces* și *Dermatophytes*). Astfel, Fluconazol poate fi indicat în tratamentul infecțiilor fungice la pacienți cu SIDA sau cu neoplazii, având sistemul imunitar deprimat.

Fluconazol are un timp de înjumătățire lung și un indice terapeutic mare.

Ceilalți derivați azolici (***MICONAZOLE, KETOCONAZOL și ITRACONAZOL)*** diminuă funcțiile celulelor sistemului imunitar *in vitro*, în special pe acelea ale limfocitelor [Yamaguchi și colab., 1993; Senior și Shaw, 1988; Pawelec și colab., 1991; citați bibl. 146]. Ketoconazol deprimă funcțiile polimorfonuclearelor din sângele periferic uman. Ketoconazol, Miconazole și Itraconazol inhibă răspunsurile PMN la stimulii antigenici,

Scanned with OKEN Scanner

precum şi răspunsurile proliferative antigen induse ale limfocitelor umane [146].

Fluconazol, spre deosebire de ceilalţi azoli, nu deprimă funcţiile celulelor imunocompetente. Doza uzuală terapeutică de Fluconazol este cuprinsă între 1-5 mg/kg corp/zi (experimental, la şoarece).

AMFOTERICINA B are efecte imunostimulatorii [Yamaguchi şi colab., 1993; citaţi bibl. 146].

Ţinând cont de toate aceste aspecte privind RI de către diferite grupe de chimioterapice, de exemplu, în pneumoniile bacteriene la imunodeprimaţi, schema terapeutică se va începe cu un *coktail* antibiotic cu spectru larg (inclusiv pentru *Enterobacteriacee, Pseudomonas, Piocianic, Aspergillus, S. aureus*), şi anume, *triada* [252]: Cefalosporină + Aminoglicozid + Tricarcilină, 15-18 g/zi, i.v., în 4-8 administrări/zi.

În caz de eşec, după 3 zile, se ajustează terapia conform rezultatelor antibiogramei:

- pentru *Legionella*: Eritromicină, 4 g/zi, în 4 doze parţiale + Rifampicină, 600 mg, de două ori/zi;
- pentru *P. carinii*: Cotrimoxazol sau Pentamidină;
- pentru bacilul Koch: tuberculostatice.

27. SUBSTANŢE BLOCANTE ALE SINTEZEI DE RADICALI LIBERI DE HO⁻ *[190, 252, 256, 257]*

• ***DESFEROXAMINA*** (agent chelator, indicat în intoxicaţiile cu fier) inhibă sinteza radicalilor hidroxil ($HO^{\cdot}$), prin blocarea reacţiei Fenton; inhibă producţia de TNFα de către monocite şi PMN la om [256, 257].

• Alte substanţe cu aceleaşi efecte de tip imunomodulator sunt agenţii antineoplazici: ***DIMETILTIOUREEA (DMTU) şi TETRAMETILTIOUREEA (TMTU) [257].***

• ***GLUTATIONUL (GSH), N-ACETILCISTEINA (NAC), ACIDUL ASCORBIC şi diureticele osmotice (MANITOL)*** inhibă sinteza radicalilor $HO^{\cdot}$, dar nu influenţează producţia de TNFα [257].

• ***Inhibitorii de lipoxigenază (ACIDUL NORDIHIDROGUAIARETIC, ESCULETIN)*** sunt epuratori ("scavenger") de radicali $HO^{\cdot}$. Datele experimentale demonstrează că acest efect nu este implicat în funcţia de inhibare a lipoxigenazei [190].

Alţi doi inhibitori ai lipoxigenazei, ***AA 861*** şi ***ACIDUL 5,8,11,14-EICOSATETRAENOIC (ETYA)*** nu sunt epuratori de radicali HO-. În schimb, toţi cei 4 compuşi inhibitori ai lipoxigenazei, inhibă

Scanned with OKEN Scanner

proliferarea mitogen-indusă a celulelor mononucleare din sângele periferic, efectul producându-se dependent de doza administrată [190].

Spre deosebire de metaboliţii acidului arahidonic obţinuţi pe calea ciclooxigenazei (prostaglandinele, prostaciclinele, tromboxanii), care prezintă, în general, efecte imunosupresoare (inhibă creşterea mitogen-indusă a concentraţiei Ca^{2+} liber în citoplasma limfocitelor T), metaboliţii acidului arahidonic derivaţi pe calea lipoxigenazei (leucotrienele, lipoxinele şi hepoxilinele) prezintă efecte imunostimulatoare asupra proliferării şi a funcţiei limfocitelor T. Aceste efecte se realizează prin cel puţin două mecanisme moleculare de acţiune [190]:

a. produc creşterea mitogen-indusă a Ca^{2+} citoplasmatic [Dornand şi colab., 1987; Aussel şi colab., 1994; citaţi bibl. 190] sau mobilizează Ca^{2+} din depozitele intracelulare [Richter şi colab., 1987; citaţi bibl. 190];

b. stimulează activitatea guanilat-ciclazei şi cresc concentraţia intracelulară de GMP_c [Hadden J., 1987; citaţi bibl. 190].

Datele experimentale demonstrează că rolul major în realizarea efectelor imunostimulatorii ale metaboliţilor căii lipoxigenazei îl are activarea protein-kinazei C.

Leucotrienele prezintă efecte asupra unor componente ale sistemului imunitar, cum ar fi, LyT [148]. LTB, eliberate de granulocitele şi limfocitele umane şi din plămânul de cobai, stimulează chemotaxia/agregarea fagocitelor şi eliberarea tromboxanului A_2 [148].

Inhibitorii lipoxigenazei menţionaţi mai sus (ETYA, AA 861 şi Acidul nordihidroguaiaretic - NDGA) prezintă efecte antiproliferative asupra unor linii de celule T umane leucemice şi asupra unor linii celulare leucemice cu origine mieloidă. Inhibă promovarea diferenţierii unor linii celulare neoplazice [Dornand şi colab., 1987, Ondrey şi colab., 1989, Huang şi colab., 1994; citaţi bibl. 190]. Aceste efecte supresoare sunt atribuite inhibării formării metaboliţilor căii lipoxigenazei, metaboliţi care, în condiţii normale sunt necesari pentru optimizarea funcţiei celulelor T. Inhibitorii lipoxigenazei nu prezintă selectivitate pentru 5-, 12- sau 15-lipoxigenază.

NDGA este un derivat de difenil-alcool, cu cunoscute proprietăţi antioxidante şi un inhibitor relativ selectiv al 5-lipoxigenazei în neutrofilele umane [Salari şi colab., 1984; citaţi bibl. 190], un inhibitor al 12-lipoxigenazei în plachete [Rao şi colab., 1987; Barbieri şi colab., 1997; citaţi bibl. 190] şi al 15-lipoxigenazei în celulele endoteliale [Derian şi Lewis, 1992; citaţi bibl. 190], precum şi un eficient inhibitor al ciclooxigenazei la concentraţii înalte [Dunick şi colab., 1983; citaţi bibl. 190].

Scanned with OKEN Scanner

ESCULETIN este un derivat de alcool al 1, 2-benzopironei (cumarină), considerat, în mod similar, un epurator ("scavanger") de radicali liberi, dar şi cu capacităţi de chelare a ionilor fier [Hoult şi colab., 1994; citaţi bibl. 190]. Inhibă selectiv 5-lipoxigenaza în celulele provenite din mastocitoamele de şoarece [Neichi şi colab., 1983; citaţi bibl. 190], dar este şi un puternic inhibitor al 12-lipoxigenazei în plachete [Rao şi colab., 1987; citaţi bibl. 190] şi al 15-lipoxigenazei în monocitele umane [Gleason şi colab., 1995; citaţi bibl. 190].

AA 861 este un derivat sintetic de parachinonă, inhibitor selectiv al 5-lipoxigenază din peretele PMN la cobai [Yoshimoto şi colab., 1982; citaţi bibl. 190], dar şi un slab inhibitor al 15-lipoxigenazei în ţesutul gingival [Tamai şi colab., 1990; citaţi bibl. 190].

ETYA este un analog acetilenic al acidului arahidonic, inhibitor dual al lipoxigenazei şi ciclooxigenazei [Dunick şi colab., 1983; Taylor şi colab., 1985; citaţi bibl. 190] şi poate, de asemenea, servi ca substrat competitiv inhibitor pentru acidul arahidonic.

NDGA şi ESCULETIN prezintă efecte de inhibare a proliferării LyB, datorită în special inhibării produşilor radicalilor liberi de OH-. ETYA şi AA 861 au însă rol nesemnificativ de epurator de radicali liberi (OH-). Rolul de scavenger (epurator) nu are legătură cu funcţia de inhibare a lipoxigenazei.

Efectele inhibitorilor de lipoxigenază sunt influenţate şi de gradul crescut de lipofilie al acestor compuşi. Efectele lor de inhibare a lipoxigenazei nu sunt dependente de prezenţa monocitelor aderente.

Efectele inhibitorii ale NDGA sunt asemănătoare cu cele ale acidului cafeic, constând în inhibarea sintezei de IL-2, parţial mediată pe calea inhibării protein-kinazei C [190].

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

IV. REACȚII IMUNOLOGICE LA MEDICAMENTE

Medicamentele pot "activa" sistemul imun pe căi nedorite, reacțiile determinate reprezentând un tip aparte de reacții adverse la medicamente [53, 122, 123, 148, 235, 256].

Reacțiile adverse la medicamente, mediate prin procese imune, pot avea mecanisme diferite:

Tipul I

Sunt reacții alergice "acute", imediate, mediate de IgE, incluzând: anafilaxia, urticaria şi angioedemul. IgE se fixează pe mastocitele tisulare şi bazofilele circulante.

Substanțele care pot determina acest tip de reacție sunt reprezentate de:

- ***Antibiotice***: Penicilinele, Streptomicina, Neomicina, Gentamicina, Kanamicina, Eritromicina, Lincosaminele, Novobiocina.
- ***Hormoni***: Insulina, Hormonul de creştere.
- ***Barbiturice***
- ***Compuşi cu arsen***
- ***Compuşi cu mercur***
- ***Neuroleptice***: Clorpromazina.
- ***Hidantoine***
- ***Compuşi cu iod***
- ***Compuşi cu brom***
- ***Antitiroidiene de sinteză***: Metiltiouracil, Carbimazol.
- ***Sulfonamide***

Tipul II

Sunt reacții imunologice complement dependente şi, prin urmare, implică participarea unor Ac de tipul IgG sau al IgM. Ac se fixează pe celulele circulante ale sângelui, determinând liza complement-dependentă.

Aceste medicamente pot induce sindroame autoimune:

- Lupus eritematos sistemic (Hidralazina, Procainamida, Clorpromazina, beta-blocantele, Fenitoinul, HIN, D-penicilamina);
- Anemie hemolitică autoimună (Metil-Dopa, Levo-Dopa, Acidul mefenamic);
- Miastenie (Trimetadiona, D-penicilamina);
- Purpură trombocitopenică (Chinidina).

Alergia la Insulină poate fi mediată şi de Ac tip IgG [235].

Tipul III

Sunt reacţii la medicamente, exemplificate prin boala serului, care implică complexe imune conţinând IgG sau IgM şi vasculite multisistemice complement-dependente.

Manifestările clinice ale bolii serului cuprind: erupţii cutanate urticariene, artralgii sau artrite, limfadenopatii şi febră. Reacţiile sistemice apar după 6-12 zile, de obicei după ce medicamentul implicat a fost eliminat.

De asemenea, medicamentele pot induce vasculite imune, cum ar fi eritemul multiform.

Sindromul Stevens Johnson este cea mai severă formă de manifestare a reacţiilor imunologice de tip III şi include: eritem multiform, artrite, nefrite, leziuni ale SNC şi miocardite. Acest sindrom este determinat cel mai frecvent de sulfonamidele chimioterapice, diureticele de ansă (***FUROSEMIDE***), diureticele tiazidice.(***HIDROCLOROTIAZIDA***), iar dintre inhibitorii de enzime de conversie a Angiotensinei II, ***CAPTOPRIL***.

Substanţele care pot determina reacţii imunologice de tip III sunt: sulfonamidele, penicilinele, thiouracilul, anticonvulsivantele, iodurile, Captopril.

Tipul IV

Sunt reacţiile mediate celular, care apar în timpul administrării locale a medicamentelor (de exemplu, dermatitele de contact).

Multe medicamente pot determina **reacţii pseudoalergice** [235]. Astfel, ele pot induce eliberarea de mediatori ai anafilaxiei din mastocite sau bazofilele circulante, prin mecanisme neimunologice. Deşi nu este implicată producţia de IgE, simptomele anafilaxiei şi reacţiile anafilactoide sunt identice. Substanţele active care pot determina reacţii pseudoalergice sunt reprezentate de: ***substanţele de contrast iodate, în special formele ionice, acidul acetilsalicilic şi alte antiinflamatoare nesteroidiene, curara şi derivaţii săi, analgezicele opioide, unele anestezice locale.***

Scanned with OKEN Scanner

Cauzele datorită cărora aceste reacții pseudoalergice (cum ar fi, urticaria neimunologică și reacțiile anafilactoide) se manifestă numai la o parte a populației, sunt necunoscute.

Au fost elaborate *strategii* pentru siguranța administrării medicamentelor care determină reacții pseudoalergice. Astfel, este foarte important, de exemplu, pretratamentul cu antihistaminice anti-H_1 și anti-H_2 și cu GCS, la pacienții care reacționează la substanțele de contrast iodate. De asemenea, se evită administrarea de acid acetilsalicilic sau de alte antiinflamatoare nesteroidiene, la pacienții susceptibili. Unii autori recomandă chiar *desensibilizarea orală* la acid acetilsalicilic [235].

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

V. STRATEGII DE SCREENING PENTRU DETECTAREA AGENȚILOR IMUNOTERAPEUTICI

În ultimii 15 ani, interesul pentru agenţii imunoterapeutici a crescut foarte mult, pe de o parte datorită dezvoltării cunoştinţelor despre sistemul imunitar, iar pe de altă parte, datorită faptului că un număr important de boli umane sunt asociate cu anomalii ale funcţiilor imune [F. Aiuti şi colaboratorii, 1986 ; citaţi bibl. 30].

Imunofarmacologii au sarcina de a realiza joncţiunea între farmacologia fundamentală şi imunologia modernă, cu scopul de a determina efectele biologice şi biochimice ale produselor de sinteză şi naturale ce influenţează sistemul imunitar, de a elucida mecanismul (sau mecanismele) prin care fiecare dintre aceste efecte sunt mediate şi de a evalua potenţialul clinic al acestor agenţi terapeutici [M. A. Chirigos şi J. E. Talmadge, 1985 ; citaţi bibl. 30].

Pornind de la aceste considerente, S. C. Gilman şi colaboratorii au propus, în 1989, o schemă generalizată pentru detectarea şi cercetarea agenţilor imunoterapeutici (Fig. 10).

În selecţionarea unor sisteme de screening pentru testarea noilor agenţi imunoterapeutici ar trebui îndeplinite următoarele **condiţii ideale** [30, 101, 148]:

1) Sistemul de screening ar trebui ***să fie predictiv*** privind capacitatea agentului de a modula intens şi specific răspunsul imun (de exemplu, creşterea producţiei de interferon, pentru agenţii terapeutici antivirali; creşterea activităţii celulelor NK sau a acţiunii citostatice a macrofagelor, pentru agenţii terapeutici anti-tumorali etc.).

2) Modelul de screening ar trebui să fie capabil ***să evalueze un număr mare de entităţi chimice şi biologice*** privind capacităţile lor imunomodulatorii;

3) Un model de screening ar trebui ***să fie disponibil pentru un număr mare de probe***, în scopul testării influenței noului produs asupra diferitelor componente ale sistemului imun.

4) Modelul de screening ar trebui ***să fie rapid, sensibil şi uşor de folosit.***

5) Răspunsul experimental măsurat ar trebui ***să fie uşor cuantificabil***, după criterii obiective şi mai puțin după criterii subiective, iar datele obținute ar trebui să reziste la o riguroasă evaluare statistică şi la validare.

6) Pentru a putea fi practic folosit pe scară mare, trebuie ***să fie puțin costisitor.***

Până în prezent, tehnicile de cercetare în imunofarmacologie nu respectă satisfăcător toate aceste deziderate [S.J.Urbaniak şi colaboratorii, 1979 ; citați bibl. 30], dar se utilizează, pe cât posibil, metode riguroase, în special în fazele de screening.

Tehnicile obişnuite de cercetare folosite pentru a identifica şi caracteriza noii agenți imunoterapeutici pot fi grupate astfel [S.C. Gilman şi A.J. Lewis, 1986 ; citați bibl. 30, 148]:

1. Cercetarea efectelor farmacodinamice pe LyT:

1.1. Testarea funcției imune ("in vitro"/"in vivo"):

- Efectele citotoxice ale LyT.
- Blastogeneza mitogen-indusă (Con A-, PHA-indusă).
- Producția de citokine (IL-1, IL-2).
- Proporția LyTh/LyTs.
- Hipersensibilitatea de tip întârziat.

1.2. Modele experimentale ale bolilor "țintă":

- Transplante de organe, cu urmărirea următorilor parametri:
  - "supraviețuirea" grefelor de piele;
  - manifestarea sindromului "grefă-contra-gazdă".
- Boli autoimune:
  - encefalomielite alergice experimentale;
  - lupusul (la şoareci);
  - nefrite experimentale cu complexe imune, la şoareci (DBA/2 la C57B1/6 x DBA/2F);
- Modele inflamatorii:
  - edemul labei/pleurezie, la şobolani, folosind carrageenină;
  - artrite Pristane-induse, la şobolani;
  - artrite colagen-induse, la şobolani.

Scanned with OKEN Scanner

2. Cercetarea efectelor farmacodinamice pe LyB:

2.1. Testarea funcţiei imune ("in vitro"/"in vivo"):

- Studiul blastogenezei (LPS- şi PWM-induse).
- Studiul celulelor splenice formatoare de plaje de hemoliză Jerne.

2.2. Modele experimentale ale bolilor "ţintă":

- Infecţii experimentale cu:
  * *Herpes simplex*
  * *Salmonella typhimurium*
  * *Escherichia coli*
  * *Candida albicans*
  * *Listeria monocytogenes*

3. Cercetarea efectelor farmacodinamice pe celulele fagocitare:

3.1. Testarea funcţiei imune ("in vitro"/"in vivo"):

- Efectele citotoxice ale celulelor NK.
- Studii ale funcţiilor macrofagelor: fagocitoză, pinocitoză, chemotaxie, citotoxicitate, eliberarea radicalilor de oxigen, enzime lizozomale, metaboliţi arahidonaţi, monokine, exprimarea receptorilor pentru fracţiunea C3 a complementului seric.
- Studii ale funcţiilor neutrofilelor: chemotaxie, eliberarea radicalilor de oxigen, enzime lizozomale.

3.2. Modele experimentale ale bolilor "ţintă":

- Tumori primare şi metastatice experimentale:
  * pulmon Lewis;
  * limfom experimental;
  * plămân Madison, M109;
  * adenocarcinoame mamare, fibrosarcoame, L1210;
  * leucemii.

Din considerente practice (comoditate, viteză, uşurinţă în efectuarea tehnicii şi în interpretarea rezultatelor), pentru programul primar de screening se utilizează cercetări "in vitro". Tehnicile "in vitro" evaluează, astfel, "ex vivo", efectele agentului imunoterapeutic în protocoale de lucru în care activitatea imunologică este testată "in vitro", după expunerea "in vivo" la produsul respectiv. Abia în final se fac studii pe modele animale întregi [30] (Fig. 10).

Scanned with OKEN Scanner

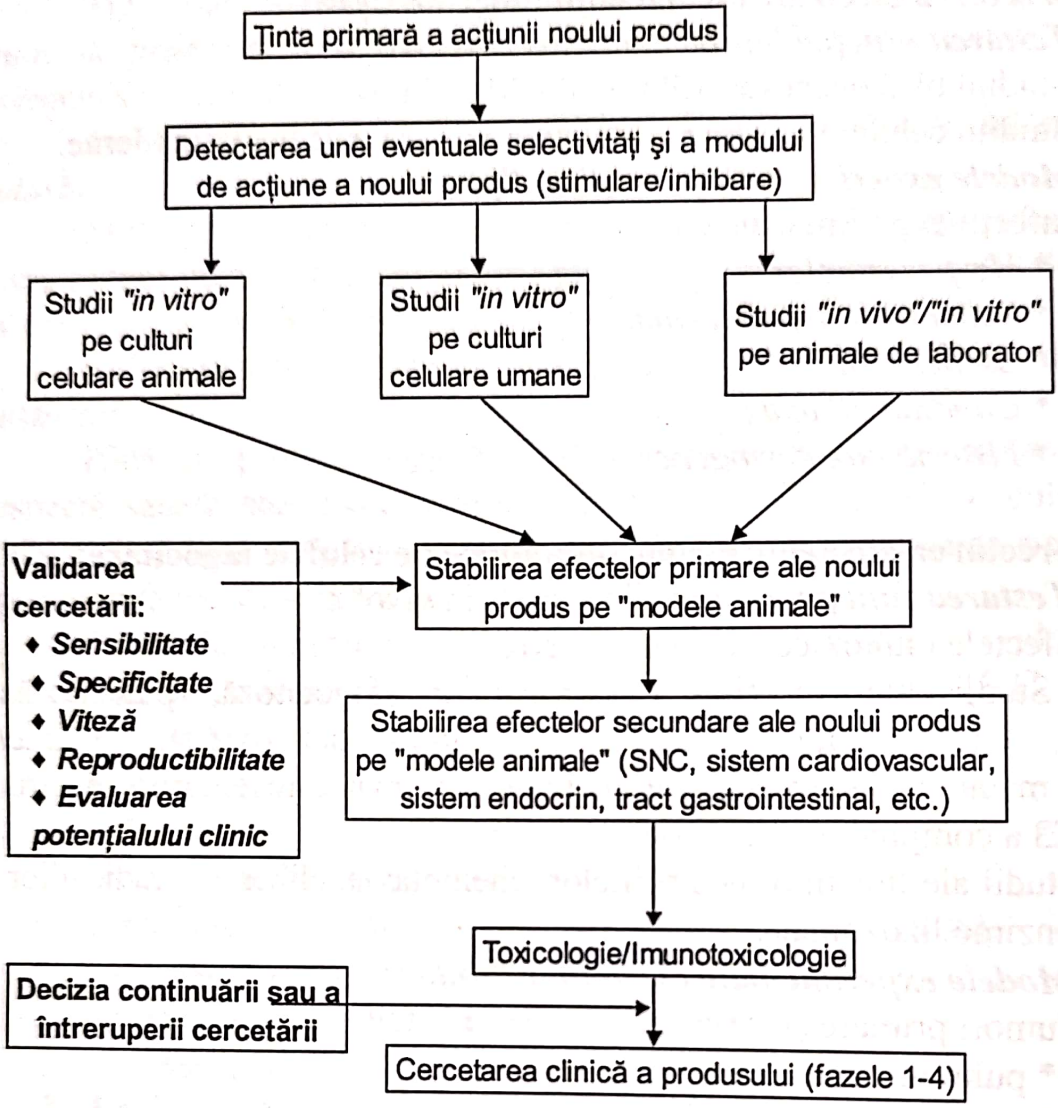


Figura 10. Schema cercetării unui nou agent imunoterapeutic
După S. C. Gilman, R. T. Maguire şi A. J. Lewis [22]

Pe viitor, metodologia modernă de screening în cercetarea noilor agenţi imunoterapeutici, va trebui să implice tot mai mult tehnicile biochimice, histochimice şi imunochimice, testările cu receptori radiomarcaţi şi anticorpi monoclonali.

Pe de altă parte, cercetătorii imunofarmacologi ar trebui să aibă la dispoziţie, pentru screening-ul iniţial al noilor agenţi terapeutici, o baterie de teste "in vitro" şi "in vivo", care să permită testarea oricărei substanţe chimice sau a oricărui produs biologic, în condiţii standardizate. Bateria de teste trebuie să fie, totuşi, suficient de flexibilă, pentru ca testele "in vitro" să se poată corela cu cele "in vivo" şi să rămână valabile, în ciuda factorilor de variabilitate caracteristici testelor "in vivo" [148].

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. Adams MR., Jessup W., Hailstones D., Celermajer DS. (Feb. 4, 1997): ***L-arginine reduce human monocyte adhesion to vascular endothelium and endothelial expression of cell adhesion molecules,*** *Circulation,* 95(3):662-8.
2. Adams MR., Jessup W., Celermajer DS. (Mar 1, 1997): ***Cigarette smoking is associated with increased human monocyte adhesion to endothelial cells: reversibility with oral L-arginine but not vitamin C,*** *Journal of the American College of Cardiology* 29(3):491-7.
3. Adams MR., McCredie R., Jessup W., Robinson J., Sullivan D, Celermajer DS. (Mar. 21, 1997): ***Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilatation and reduces monocyte adhesion to endothelial cells in young men with coronary artery disease,*** *Atherosclerosis*, 129(2):261-9.
4. Ailiesei Octavița (1983): ***Imunologie,*** Editura Universității "Al.I.Cuza", Iași, pp.116-120.
5. AlamR.(March 3-8, 2000): ***Cytokine and cytokine therapy for allergic diseases: which one is the most critical?*** *Program and abstracts of the 56th annual meeting of the American Academy of Allergy, Asthma and Immunology*, San Diego, California.
6. Ammer M., Tosson Z., Sohman A., Sehin A.G., Galem A., Al-Gendy A.A. (Oct.,1991): ***Verucae Treated by Levamisole,*** *Int.J. of Dermatology, Vol.30, No.10,* pp.738-740.
7. Anderson PM., Ramsay NK., Shu XO, Rydholm N., Rogosheske J., Nicklow R., Weisdorf DJ., Skubitz KM. (Aug., 1998): ***Effect of low-dose oral glutamine on painful stomatitis during bone marrow transplantation,*** *Bone Marrow Transplantation*, 22(4):339-44.
8. Arsenian M., Addison-Gilbert (Sep., 1998): ***Potential cardiovascular applications of glutamate, aspartate, and other amino acids,*** *Clinical Cardiology,* 21(9):620-4.

107. Ichinose M., Sawada M., Sasaki K., Oomura Y. (1998): ***Enhancement of Phagocytosis in Mouse Peritoneal Macrophages by Fragments of Acidic Fibroblast Growth Factor (aFGF),*** *Int.J. of Immunopharm.,* 20, 4/5, pp. 193-204.
108. Idova G., Cheido M. and Devoino L. (1997): ***Modulation of The Immune Response by Changing Neuromediator Systems Activity Under Stress,*** *Int. J. Immunopharmacol.,* vol. 19, nr. 9/10, pp. 535-539.
109. Ikeda Ken, Hirano Masako, Takeuchi Makoto, Yamada Toshimitsu and Tonuoka Kenichi (1996): ***Hamster Cardiac Xenograft in Rat Ear: Effect of Cyclosporine A and Leflunomide on Survival,*** Int.J.Immunopharmac., vol. 18, no. 6/7, pp. 409-414.
110. Ikejima K., Iimuro Y., Forman DT., Thurman RG. (Jul., 1996): ***A diet containin glycine improves survival in endotoxin shock in the rat.*** *Source American Journal of Physiology* 271(1 Pt 1): G 97-103.
111. Ionescu Ruxandra, Predeșteanu Denisa, Popescu E. (1994): ***Imunosupresia medicamentoasă în bolile reumatice,*** *Medicina Modernă, No 11,* pp.600-603.
112. Iwata S., Hori T., Sato N., Hirota K., Sasada T., Mitsu A., Hirakawa T., Yodoi J. (Apr. 1, 1997): ***Adult T cell leukemia (ATL)-derived factor/human thioredoxin prevents apoptosis of lymphoid cells induced by L-cysteine and glutathione depletion: possible involvement of thiol-mediated redox regulation in apoptosis caused by pro-oxidant state,*** *Journal of Immunology,* 158(7):3108-17.
113. Jaffe H.A., Buhl R., Mastrangeli A., et al (1991): ***Organ Specific Cytokine Therapy: Local Activation of Mononuclear Phagocytes by Delivery of an Aerosol of Recombinant Interferon-gamma to the Human Lung,*** *J.Clin.Invest., 88:297-302.*
114. Jiang Hong, Stewart A. Charles, Fast David J. and Leu Richard W (1996): ***Tumor - Derived Recognition Factor (TDRF) Induces Production of TNF-α By Murine Macrophages, But Requires Synergy with IFN-γ Alone or in Combination with IL-2 to Induce Nitric Oxide Synthase,*** *Int. J. Immunopharmac.,* Vol. 18, 8/9, pp. 479-499.
115. Jiuan Yu-Shu and Tseng Jerning (1996): ***Fu-Ling, a Chinese Herbal Drug, Modulates Cytokine Secretion by Human Peripheral BloodMonocytes,*** *Int. J. Immunopharmac.,* vol. 18, no. 1, pp. 37-44.

Scanned with OKEN Scanner

272. Zheng Z.M. and Specter S.C. (1996): ***Delta - 9 - tetrahydrocannabinol suppresses tumor necrosis factor & maturation and secretion but not its transcription in mouse macrophages,*** *Int. J. Immunopharmac.,* Vol. 18, No.1, pp. 53-68.
273. Zidek Z. And Mašek K. (Jul. 1998): ***Erratic Behavior of Nitric Oxide, within the Immune System: Illustrative Review of Conflicting Data on Their Immunopharmacological Aspects,*** *nt. J. Immunopharmac.,* Vol. 20, No.7, pp. 319-343.
274. Ziegler TR., Bye RL., Persinger RL., Young LS., Antin JH., Wilmore DW (Jan., 1998): ***Effects of glutamine supplementation on circulating lymphocytes after bone marrow transplantation: a pilot study*** *American Journal of the Medical Sciences,* 315(1):4-10.
275. Zweiman B., von Allen C., Schwartz L.B., Atkins P.C. (1998): ***Patterns of Inflammatory Responses Following Rechallenge of Skin Late-phase Allergic Reaction Sites,*** *J. Allergy Clin.Immunol.;* 102:94-98.
276. *** (1989) ***Isoprinosine® for viral immunotherapy,*** *Newport Pharmaceuticals Int'L. Inc., 897 Newport Beach, CA 92663-2801, U.S.A.*
277. *** (Oct., 1991) ***Immunological effects of Levamisole "in vitro",*** *Journal of Immunotherapy, Vol.10, No.5,* pp. 297-306.
278. *** (Apr., 1993) ***Effect of chemotherapy consisting of cyclophosphamide, doxorubicin in the peripheral blood,*** *British Journal of Cancer. Vol.67, No.4,* pp. 798-800.
279. *** (May, 1994) ***Levamisole as an immunopotentiator for T-cell deficiency,*** *Immunopharmacology and Immunotoxicology, . Vol.16, No.2,* pp.129-137.
280. *** (Jan. 1, 1997) *Frontiers in Bioscience 2,* d12-26.
281. *** (1997) *Home Cytokine Bulletin, Catalog,* New Product.

Scanned with OKEN Scanner

La ora actuală există relativ puține monografii, manuale sau tratate care să abordeze o sistematizare și aducere la zi a mijloacelor terapeutice imunofarmacologice.

De aceea, lucrarea doamnei **Conf. Dr. Cătălina-Elena Lupuşoru** constituie un efort remarcabil de sistematizare a unei literaturi științifice bogate, cu date adesea contradictorii.

Lucrarea reprezintă un aport deosebit, atât în planul concepției și structurării unui amplu material bibliografic, cât și a modului în care a reușit să redea aceste date într-o lucrare unitară.

Prof. Univ. Dr. VICTOR VOICU
Membru corespondent al Academiei Române
Preşedintele Societății Române de Farmacologie, Terapeutică şi Toxicologie Clinică

La toate acestea se adaugă atributul de *premieră* a acestui subiect în țara noastră, o primă încercare de a defini principalele capitole ale ***imunofarmacologiei.***

Cartea este laborioasă, a necesitat ani de activitate și o deosebită pregătire fundamentală în această problemă. Are caracter de originalitate și o reală valoare științifică într-un domeniu nou și de mare actualitate.

Prof. Univ. Dr. MIRCEA PAVELESCU

ISBN : 973-85229-5-1

Scanned with OKEN Scanner